

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

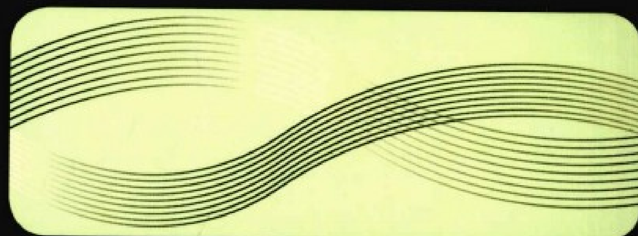


卫生部“十一五”规划教材

全国高等医药教材建设研究会规划教材

全国高等学校教材

供**8年制**及**7年制**临床医学等专业用



第2版

医学微生物学

Medical Microbiology

主　编　贾文祥

副主编　陈锦英　江丽芳　黄　敏



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

全国高等医药教材建设研究会规划教材

全国高等学校教材

供8年制及7年制临床医学等专业用

医学微生物学

Medical Microbiology

注： 全套书均为卫生部“十一五”规划教材，画 * 者为普通高等教育“十一五”国家级规划教材

策划编辑　鲁志强
责任编辑　鲁志强　欧阳丹
封面设计　郭　淼
版式设计　何美玲

人民卫生出版社网站：

门户网：www.pmph.com　出版物查询、网上书店
卫人网：www.ipmph.com　护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训





ISBN 978-7-117-13030-1

定价(含光盘)：90.00 元

- 普通高等教育“十一五”国家级规划教材
- 卫生部“十一五”规划教材
- 全国高等医药教材建设研究会规划教材
- 全国高等学校教材
- 供8年制及7年制临床医学等专业用



医学微生物学

Medical Microbiology

主　编　贾文祥

副主编　陈锦英　江丽芳　黄　敏

编　者（以姓氏笔画为序）

王　丽　吉林大学医学院
王明丽　安徽医科大学
龙北国　南方医科大学
叶嗣颖　华中科技大学同济医学院
刘先洲　武汉大学医学院
江丽芳　中山大学中山医学院
严　杰　浙江大学医学院
李　凡　吉林大学医学院
李明远　四川大学华西医学中心
杨致邦　重庆医科大学
张凤民　哈尔滨医科大学
张力平　首都医科大学
陈锦英　天津医科大学
林　旭　福建医科大学
罗恩杰　中国医科大学
钟照华　哈尔滨医科大学
贾文祥　四川大学华西医学中心
贾继辉　山东大学医学院
钱利生　复旦大学医学院
徐志凯　第四军医大学
黄　敏　大连医科大学
楚雍烈　西安交通大学医学院
德里夏提　新疆医科大学

秘　书　李明远　钟照华


人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

图书在版编目（CIP）数据

医学微生物学／贾文祥主编．－2版．－北京：人民卫生出版社，2010.8
ISBN 978-7-117-13030-1

Ⅰ.①医… Ⅱ.①贾… Ⅲ.①医药学：微生物学－医学院校－教材 Ⅳ.①R37

中国版本图书馆CIP数据核字（2010）第113131号

门户网：www.pmph.com	出版物查询、网上书店
卫人网：www.ipmph.com	护士、医师、药师、中医师、卫生资格考试培训

医 学 微 生 物 学

第2版

主　　编：贾文祥
出版发行：人民卫生出版社（中继线 010－59780011）
地　　址：北京市朝阳区潘家园南里 19 号
邮　　编：100021
E - mail：pmph @ pmph.com
购书热线：010－67605754　010－65264830
010－59787586　010－59787592
印　　刷：北京铭成印刷有限公司
经　　销：新华书店
开　　本：850×1168　1/16　**印张**：32
字　　数：939千字
版　　次：2005年8月第 1 版　2010 年8月第 2 版第 4 次印刷
标准书号：ISBN 978－7－117－13030－1/R・13031
定价（含光盘）：90.00元
打击盗版举报电话：010－59787491　E-mail：WQ @ pmph.com
（凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换）

第二版出版说明

全国高等学校八年制临床医学专业规划教材自2005年出版以来，得到了教育部、卫生部等主管部门的认可，以及医学院校广大师生的好评。为了进一步满足教学改革与实践不断推进，以及医学科学不断发展的需要，全国高等医药教材建设研究会和卫生部教材办公室在吴阶平、裘法祖、吴孟超、陈灏珠和刘德培院士等的亲切关怀和支持下于2009年启动了该套教材第二轮的修订工作。

第二轮修订过程中仍坚持"精品战略，质量第一的原则，从精英教育的特点、医学模式的转变、信息社会的发展、国内外教材的对比等角度出发，在注重'三基'、'五性'的基础上，从内容到形式都'更新'、'更深'、'更精'，为培养高素质、高水平、富有临床实践和科学创新能力的医学博士服务"的编写宗旨，并根据使用过程中的反馈意见与建议，在第一轮的基础上力求做到：学科体系更加完善，增加了《临床流行病学》、《肿瘤学》、《生物信息学》、《实验动物学》、《医学科学研究导论》和《医学伦理学》；相关学科的交叉与协调更为完善，比如《生物化学》与《医学分子生物学》合并为《生物化学与分子生物学》；内容的选材与框架体系的设计更加注重启发性，强调学生创新能力的培养，并适当给学生留下了思维分析、判断、探索的空间；教材的配套更加健全；装帧设计更为精美。

该套书在修订过程中，得到了广大医学院校的大力支持，作者均来自各学科临床、科研、教学第一线，具有丰富临床、教学、科研和写作经验的优秀专家，作者队伍覆盖了目前国内所有开办临床医学专业八年制及七年制的院校。

修订后的第二版仍以全国高等学校临床医学专业八年制及七年制师生为主要目标读者，并可作为研究生、住院医师等相关人员的参考用书。

全套教材共37种，其中36种于2010年8月出版，1种将于2010年年底出版。

全国高等学校八年制临床医学专业卫生部规划教材
编写委员会

八年制教材目录

*1.《细胞生物学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	杨　恬 左　伋　刘艳平
*2.《系统解剖学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	柏树令 应大君　丁文龙　崔益群
*3.《局部解剖学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	王怀经　张绍祥 张雅芳　胡海涛
*4.《组织学与胚胎学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	高英茂　李　和 李继承　陈晓蓉
*5.《生物化学与分子生物学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	贾弘禔　冯作化 屈　伸　药立波　方定志　冯　涛
*6.《生理学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	姚　泰 曹济民　樊小力　王庭槐
*7.《医学微生物学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	贾文祥 陈锦英　江丽芳　黄　敏
*8.《人体寄生虫学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	詹希美 诸欣平　刘佩梅
*9.《医学遗传学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	陈　竺 陆振虞　傅松滨
*10.《医学免疫学》 第2版	主　编 副主编	何　维 曹雪涛　熊思东
*11.《病理学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	陈　杰　李甘地 文继舫　来茂德　孙保存
*12.《病理生理学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	李桂源 吴伟康　欧阳静萍
*13.《药理学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	杨世杰 杨宝峰　颜光美　臧伟进
*14.《临床诊断学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	欧阳钦 吴汉妮　刘成玉
*15.《实验诊断学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	王鸿利 尚　红　王兰兰
*16.《医学影像学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	金征宇 冯敢生　冯晓源
*17.《内科学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	王吉耀 廖二元　黄从新　华　琦
*18.《外科学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	陈孝平 石应康　邱贵兴　杨连粤

*19.《妇产科学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	丰有吉　沈　铿 马　丁　孔北华　李　力
*20.《儿科学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	薛辛东 杜立中　毛　萌
*21.《感染病学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	王宇明 施光峰　宁　琴　李　刚
*22.《神经病学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	吴　江 贾建平　崔丽英
*23.《精神病学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	江开达 于　欣　李凌江　王高华
*24.《眼科学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	葛　坚 赵家良　黎晓新
*25.《耳鼻咽喉头颈外科学》 第2版	主　编 副主编	孔维佳 周　梁　许　庚　王斌全　唐安洲
*26.《核医学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	张永学　黄　钢 匡安仁　李亚明
*27.《预防医学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	孙贵范 凌文华　孙志伟　姚　华
*28.《医学心理学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	姜乾金 马　辛　林大熙　张　宁
29.《医学统计学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	颜　虹 徐勇勇　赵耐青
*30.《循证医学》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	王家良 詹思延　许能锋　康德英
*31.《医学文献信息检索》 第2版（含光盘）	主　编 副主编	罗爱静 马　路　于双成
32.《临床流行病学》 （含光盘）	主　编 副主编	李立明 詹思延　谭红专
33.《肿瘤学》	主　编 副主编	郝希山　魏于全 赫　捷　周云峰
34.《生物信息学》 （含光盘）	主　编 副主编	李　霞 李亦学　廖　飞
35.《实验动物学》 （含光盘）	主　编 副主编	秦　川 张连峰　魏　泓　顾为望　王　钜
36.《医学科学研究导论》	主　编 副主编	詹启敏　赵仲堂 刘　佳　刘　强
37.《医学伦理学》 （含光盘）	主　编 副主编	王明旭 尹　梅　严金海

注：全套书均为卫生部“十一五”规划教材，画*者为普通高等教育“十一五”国家级规划教材

八年制教材再版序言

五年来，在大家的热情呵护下，我们共同见证了八年制临床医学教材——这个新生命的诞生与茁壮成长。如今，第二版教材与大家见面，怀纳第一版之精华而不张扬，吞吐众学者之智慧而不狂放，正如医学精英人才所应具备的气质与神韵。在继承中发展，新生才能越发耀眼；切时代之脉搏，思维才能永领潮头。第二版教材已然跨入新的成长阶段，心中唯觉欣喜和慰藉。

回想第一版教材面世之后，得到了各方众多好评，这充分说明了：这套教材将生命科学信息化、网络化以及学科高度交叉、渗透的特点融于一身，同时切合了环境–社会–心理–工程–生物医学模式的转变，诠释了以人为本、协调发展的战略思想。另外，编委构成的权威性和代表性、内容选择、编排体系、印刷装帧质量等，令广大师生耳目一新，爱不释卷。诚然，第一版教材也并非十全十美，比如有的学科仍以介绍知识为主，启发性不强，对学生难以起到点石成金、抛砖引玉的作用，不利于学生创新思维能力的培养；有的学科、章节之间有重复现象，略显冗余，不够干练。另外，随着学科的进展，部分疾病的临床分类、治疗等内容已略显滞后，亟待最新的研究成果加入其中，充实完善。

鉴此，第一版教材的修订工作便提上日程。此次修订，比当初第一版的编纂过程更为艰辛和严谨，从编者的谨慎遴选到教材内容的反复推敲、字斟句酌，可谓精益求精、力臻完美，经过数轮探讨、分析、总结、归纳、整理，第二版教材终于更富于内涵、更具有生命力地与广大师生们见面了。

“精英出精品，精品育精英”是第二版教材在修订之初就一直恪守的理念。主编、副主编与编委们均是各领域内的医学知名专家学者，不仅著作立身，更是德高为范。在教材的编写过程中，他们将从医执教中积累的宝贵经验、体会以及医学精英的特质潜移默化地融入到教材当中。同时，在主编负责制的前提下，主编、副主编负责全书的系统规划，编委会构成团结战斗的团队，各位专家群策群力、扬长补短、集思广益、查漏补缺，为教材的高标准、高质量的修订出版打下了坚实的基础。

注重医学学科内涵的延伸与发展，同时兼顾学科的交叉与融合是第二版教材的一大亮点。此次修订不仅在第一版的基础上增加了《临床流行病学》、《肿瘤学》、《生物信息学》、《实验动物学》、《医学科学研究导论》和《医学伦理学》，同时还合并了《生物化学》与《医学分子生物学》。通过主编顶层设计，相邻学科主编、副主编协调与磋商，互审编写提纲，以及交叉互审稿件等措施，相当程度上实现了突出中心、合理交叉、避免简单重复的要求。

强调启发性以及创新意识、创新思维和创新能力的培养是第二版教材的另一大特色。除了坚持“三基（基础理论、基本知识和基本技能）和五性（思想性、科学性、先进性、启发性和适用性）”，更注重激发学生的思维，让他们成为自己头脑的主人，批判地看待事物，辩证地对待知识，创造性地预见未来。同时，这版教材也特别注重与五年制教材、研究生教材、专科医师培训教材以及参考书的区别与联系。

以吴阶平、裘法祖、吴孟超、陈灏珠为代表的德高望重的老前辈对第二版教材寄予了殷切期望和悉心指导，教育部、卫生部、国家中医药管理局、国家食品药品监督管理局的各位领导的支持是这版教材不断完善的动力之源。在这里，衷心感谢所有关心这套教材的人们！正是你们的关注，广大师生手中才会捧上这样一本融贯中西、汇纳百家的精品。

八年制医学教材的第一版是我国医学教育史上的重要创举，相信修订后的第二版将不负我国医学教育改革的使命和重任，为培养高层次的具有综合素质和发展潜能的医药卫生人才做出更大的贡献。诚然，修订过程虽然力求完美，但纰漏与瑕疵在所难免，冀望各位领导、同道及师生不吝赐教，以便于这套教材能够与时俱进，不断完善。

是为序。

中国工程院院士
中国医学科学院院长
北京协和医学院院长
刘德培 于庚寅端午佳节
二〇一〇年六月十六日

第2版序

医学微生物学是一门既古老又不断丰富、更新、发展的学科。由于微生物有十分微小但又高度多态性的基因组，有与宿主及周边环境的密切相关性，医学微生物学不仅涉及临床医学、预防医学、实验诊断医学、兽医学等诸多学科，还是生命科学中的重要组成部分。近年来席卷全球的新发、再发传染病更显示了医学微生物学已成为各家学者们角逐研究的热门学科之一。

为适应我国高等医学教育模式改革的需要，主编贾文祥教授和20所医学院校的二十几位编委合作，继续编写了主要供八年制及七年制临床医学专业学习、使用的医学微生物学第2版教材。本届编委会新增了不少在教学和科研第一线的中、青年教师参加编写，在编写过程中，贯穿了以预防为主的思想。结合国家实际需要以及启发学生创新性思维能力的要求，教材中不仅增加了分子微生物学、细胞微生物学和实验室生物安全防护等内容的新进展，还结合我国汶川5·12大地震的经验和教训，介绍了灾害医学及创伤微生物感染的内容。此外，还配备了教学光盘，为学生们提供了更深入的学习和探讨相关知识的空间。

鉴于医学微生物学学科发展的日新月异，学习内容必将不断拓展，学习者很难从教材中获得所需的前沿理论或知识。但愿本教材可作为学习者开启医学微生物学宝库的一把钥匙，希望能引导学习者在今后的学习和应用中不断获得新的启迪并在工作中有所创新。

中国工程院院士
复旦大学上海医学院
教育部/卫生部医学分子病毒学开放实验室
病原微生物学研究所

闻玉梅
2010年2月20日

第2版前言

根据我国高等医学教育模式改革的发展和需要，由全国高等医药教材建设指导委员会和卫生部教材办公室要求继续出版8年制临床医学专业的系列教材。为此我们组织了全国20所高等学校的教授们编写了第2版《医学微生物学》教材。本届编委会补充了许多在教学和科研第一线的中、青年教师参加编写，密切结合长学制临床医学生的培养目标和当前医学模式的转变，力求编写出有创新性和实用性的教材。

在第2版教材的编排形式方面，根据本学科的基本要求和教学规律，把医学微生物学分为了细菌学，病毒学和真菌学三篇。在重点介绍各类微生物共性的基础上，再分别介绍不同微生物的特点，这有利于教师安排教学，学生进行纵向和横向的比较。

在第2版教材的内容方面，贯穿了预防为主的思想，加强了基础知识与临床知识结合。对近年来新现和再现的感染性疾病及其相关病原体作了重点介绍，把微生物基因组学和生物安全两章的内容融入到相关的章节中。教材中增加了分子微生物学、细胞微生物学和实验室生物安全与防护、病毒的致病机制和病毒分类以及灾害医学及其创伤感染的微生物等新内容。

本教材增加了英文摘要、医学网址和相关领域新进展内容，配备了教学光盘。在展望中，还对微生物基因组学、幽门螺杆菌、肝炎病毒、逆转录病毒等领域的科学发展史作了介绍，增强了可读性，旨在促进双语教学，拓宽视野，启迪学生思维，有利于培养学生的自学能力和工作中的创新能力。因此，本书不仅供长学制医学生用，也可供其他医学生、研究生、教师和科研工作者用。

本教材的出版，得到了各位编委和人民卫生出版社的积极支持；我国著名的微生物学家兼医学教育家闻玉梅院士等老一辈学者给予了热心指导和鼓励；钟照华、廖芳、姚孟晖等教授积极参加了配套教学光盘的制作工作，温博海教授对立克次体章节作了精心指点，在此一并表示感谢！

限于我们的水平，本教材中必定还有错误和疏漏之处，诚恳希望读者和同道们批评指正。

贾文祥

2010年3月

目 录

第六章　消毒灭菌与生物安全　91

第七章　球菌　105

第十七章　螺旋体 218

第十八章　立克次体 230

第二篇 病 毒 学

第二十六章　虫媒病毒　*352*

第二十七章　出血热病毒　*363*

第三篇 真 菌 学

Contents

Part I Bacteriology

Part II Virology

Part III Mycology

绪 论

Microbes are distributed all over the world in the environment, on human and animal bodies. Too small to be seen by the naked eye, it is necessary to use a microscope or even an electro-microscope to examine them.

For this reason microbiology is sometimes defined as the biology of microscopic organisms. In fact, larger microbes existing in water were observed by the Dutchman Anton Van Leeuwenhoek with magnifying lenses as far back as 1674, thus the morphological period of organism was begun. The science of microbiology was established by the work of many distinguished scientists in the mid 19th century, with Louis Pasteur often regarded a founding father of the discipline. He, along with Robert Koch, researched bacterial growth and those of metabolic products, demonstrated that living organisms were the cause of infectious diseases, and provided a firm scientific basis for their study and control, which started the experimental physiological period of microbiology.

In company with the advance in physics, chemistry, biology, as well as genetics and molecular biology, microbiology has made tremendous advances in the areas of the submicroscopic structures, bacterial genomes, genetic recombination, as well as host-pathogen relationships which today are well understood, and have shifted the field into a modern microbiological period.

Medical microbiology includes the study of many types of organisms, in particular viruses, bacteria and fungi as infectious pathogens, with emphasis on the structures and products that allow them to grow and cause disease. It is one of the essential medical sciences with its objective diagnoses, prevention and treatment.

In the last 30 years, emerging and re-emerging infectious diseases continue to pose new microbiological problems to the world. New infectious agents have been identified, such as HIV, HEV, Hanta virus, Ebola virus, while old diseases, including TB, cholera and dengue fever, previously thought to be under control, have re-emerged as major infections. Viruses and bacteria are the most numerous and important pathogens and infectious diseases continue to be killers in the developed world. As of December 2009, worldwide more than 208 countries and overseas territories or communities have reported laboratory confirmed cases of pandemic influenza A/H1N1 2009, including at least 11516 deaths. The emerging infectious agents of most importance globally are shown in Table 2.

Other problems include the increasing number antibiotic resistant strains of bacteria emerging, climate change with its increased temperature and altered rainfall adding to the prevalence of infectious diseases, and the threat of bio-terrorism to spread rare infections such as anthrax.

But so much progress has been made in the field of medical microbiology, that the science will make its contribution in raising public health standards and ensure it remains a critical medical discipline in the future.

第一节 微生物与微生物学

微生物（microorganism, microbe）是一类肉眼不能直接看见，必须借助光学显微镜或电子显微镜放大几百倍或几万倍后才能观察到的微小生物的总称。它们具有形体微小、结构简单；繁殖迅速、容易变异；种类繁多、分布广泛等特点。自然界存在的微生物达数十万种以上，分布在土壤、空气、水、人与动物的体表及其与外界相通的腔道，如呼吸道、消化道等部位。

微生物的分类 大量的微生物组成了一个生物多样性的微生物世界，根据微生物有无细胞基本结构、分化程度、化学组成等特点，微生物可分为三大类。

1. 非细胞型微生物（acellular microbe） 无细胞结构，无产生能量的酶系统，由单一核酸（RNA/DNA）和蛋白质衣壳组成，必须在活细胞内增殖。病毒（virus）属此类微生物。

2. 原核细胞型微生物（prokaryotic microbe） 细胞核分化程度低，只有DNA盘绕而成的拟核（nucleoid），无核仁和核膜；除核糖体外，无其他细胞器。这类微生物包括细菌、衣原体、支原体、立克次体、螺旋体和放线菌。

在1994年出版的《伯杰鉴定细菌学》9版中，根据核糖体RNA（16S rRNA）序列分析技术的资料，提出广义的细菌包括真细菌和古细菌。上述各类原核生物，又称作真细菌（eubacteria）。古细菌（archaebacteria）的细胞结构更简单，细胞壁中不含有肽聚糖，此外古细菌还具有独特的新陈代谢方式，可在极端环境（如高温、高盐或低pH等）条件下生存。

3. 真核细胞型微生物（eukaryotic microbe） 细胞核的分化程度高，有核膜、核仁和染色体；胞浆内有多种细胞器（如内质网、高尔基体、线粒体等）；行有丝分裂，如真菌、藻类等。

微生物与人类的关系 自然界中的绝大多数微生物对人类和动、植物的生存是有益的，有些甚至是必要的。只有少数微生物能引起人类及动、植物发生病害，称为病原微生物（pathogenic microbe）。

微生物在自然界中氮、碳、硫等元素的循环方面起着重要作用。例如空气中的大量氮气只有依靠固氮菌等作用后，才能被植物吸收和利用，土壤中的微生物能将动、植物有机蛋白质转化为无机含氮化合物，供植物生长的需要，而植物又是人类和动物的营养来源。可见微生物的代谢作用在保证自然界食物链的形成，维持人类和动、植物的生存和生命的延续十分重要。

微生物已被广泛应用于人类生活中的各个领域。在农业方面，利用微生物生产细菌肥料、植物生长激素或生物农药杀虫剂。例如采用苏云金杆菌或基因工程杆状病毒杀虫剂喷洒在田间农作物或茶树上，可感染害虫并导致其中毒死亡，为农业增产开辟了新途径。在工业方面，微生物应用于食品发酵、石油、勘探、化工、制革、垃圾无害化处理、污水处理等行业，特别是在医药工业方面，许多抗生素（如青霉素、四环素、链霉素等）都是微生物的次级代谢产物。

微生物作为遗传学、分子生物学的研究材料或模式生物被广泛利用。由于细菌具有繁殖速度快，变异频率高，容易纯培养，便于保存等特点，采用微生物作为遗传与变异的研究材料有显著的优越性，有关基因、遗传密码、转录、翻译等都是在微生物中发现和得到证实。目前已经知道的生命规律，基本上都是用微生物做实验获得。此外，在基因工程技术中使用的限制性核酸内切酶、DNA聚合酶等工具酶来自细菌代谢的产物；质粒、噬菌体和病毒是基因转移的载体系统；大肠埃希菌、酵母等都是常用的工程菌，用以制备出大量的生物活性产物，如基因工程的乙肝疫苗、胰岛素、干扰素等。

人类和动物的腔道（口、鼻、咽部、肠道等）内也存在着微生物，在正常情况下这些微生物是无害的，称为正常菌群。但在某些特定的条件下，这类微生物可致病，故又称作条件致病性微生物。如大肠埃希菌寄居在肠道不致病，但若移居到腹腔、胆囊、泌尿道后就能引起感染性疾病。

微生物学（microbiology）是生命科学中的一门重要学科，主要研究微生物的基本结构、代谢、

遗传与变异及其与人类、动植物、自然界的相互关系。随着微生物领域研究的深入和扩大，又形成了许多分支学科，着重研究微生物学基本问题的有普通微生物学、微生物生理学、微生物遗传学等。按研究和应用领域可分为医学微生物学、兽医微生物学、工业微生物学、农业微生物学、食品微生物学等。此外，由微生物学与细胞生物学融合成的交叉学科细胞微生物学（cellular microbiology），着重研究病原体与宿主细胞之间的相互作用，探讨病原微生物的致病机制。

现在人们已经认同微生物学是生命科学中发展迅速、最富有活力的前沿学科，包括分子生物学、遗传学以及生物医学工程等在内的学科都因使用微生物材料进行研究而获得了飞速发展，这是其他学科所不能替代的。目前，微生物学不仅与生物化学、药理学、遗传学等有着密切的学科交叉和联系，而且有关微生物生产本身已经成为了一个重要的支柱产业，它包括了微生物工程、细胞工程、酶工程和基因工程等在内的高科技领域技术。由此可见，微生物学在促进国民经济可持续发展的进程中将会发挥重要的作用，微生物学在21世纪仍将是领先的学科之一。

第二节　医学微生物学的发展

医学微生物学（medical microbiology）主要研究与人类疾病有关的病原微生物的基本生物学特性、致病机制、机体的抗感染免疫、检测方法以及相关感染性疾病的防治措施。可见医学微生物学是一门与临床医学和感染性疾病密切联系的基础学科，掌握了医学微生物学的基础理论、基本知识和基本技能，将为学习临床医学各科的感染性疾病、超敏反应性疾病等奠定基础，在实际工作中有助于控制和消灭感染性疾病。根据临床医学专业的培养方向是未来的临床医师这一特点，本课程的编写内容力求密切联系临床医学实际，为解决临床上与感染有关的常见病、多发病的诊、防、治问题奠定扎实的临床前基础。

医学微生物学的发展经历了漫长的历史长河。从远古时代起人类就受到各种传染病的困扰，人们对传染病的病因、流行规律、致病机制等不断进行探索，从无知到有知，积累了丰富的经验和教训。回顾医学微生物学的发展历史，我们将受到深思和启发，有助于确立研究方向，培养严谨的思维和创新精神，以促进医学微生物学及其防、治感染性疾病技术的发展。

一、微生物学的经验时期

古人在当时落后的条件下，只能凭感性认识进行估计或推论传染病的病因及其流行规律等。在11世纪初，我国北宋末年刘真人就曾提出肺痨病是由小虫引起。明隆庆年间（1567～1572）中国就有人就已采用人痘接种来预防天花，该方法还先后传授到朝鲜、日本、俄国和欧洲。16世纪，意大利人Fracastoro（1483—1553）提出了传染生物学说，认为传染病在人群间可以相互传染，其传播方式可分为接触传染、媒介间接传染和空气传染三种方式，这一观点至今仍然是符合流行病学规律。18世纪清乾隆年间，我国师道南在《天愚集》鼠死行篇中就生动描述了当时鼠疫流行的情况，指出了鼠、鼠疫和人之间的关系。

二、实验微生物学时期

人类发现了微生物，开始了微生物的生理学研究进程，促进了病原微生物的研究。

早在1676年荷兰人列文虎克（Antony Van Leeuwenhoek，1632—1723）采用自制的显微镜，从雨水、牙垢等标本中，首次观察并描述了各种形态的微生物，证实了微生物在自然界中的客观存在，奠定了微生物学的发展基础。

法国科学家巴斯德（Louis Pasteur，1822—1895）（绪图1）开创了微生物的生理学时代。在19世纪60年代，法国的葡萄酒工业面临酒类变质的危机，经济损失严重。巴斯德在解决葡萄酒变质原因的过程中，发现有机物的发酵与腐败现象均是由微生物引起，他通过著名的“S形曲颈瓶”

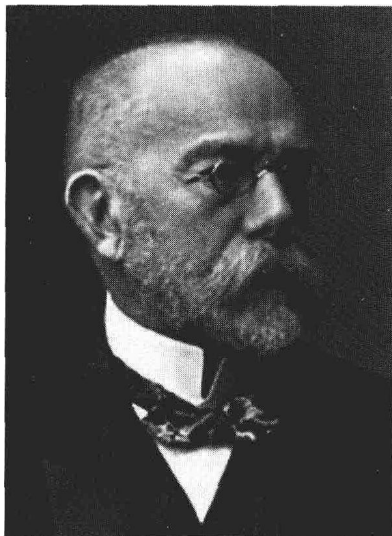
实验证实有机物的发酵是因酵母的作用，而酒味变酸是因其污染了除酵母以外的其他杂菌的结果。为了防止酒类变质，他将待发酵的基质液预先经62℃处理30分钟后，再加入酵母，成功解决了杂菌污染的难题。巴斯德用实验结果批驳了当时盛行的微生物是自然生成的“生物自生论”的谬论，人们认识到不同形态的微生物，其代谢产物方面也有所不同，开始了研究细菌代谢产物的生理学阶段。随后他还对当时流行的疾病，如蚕病、鸡霍乱、炭疽以及狂犬病等的病原体进行了研究，还研制了炭疽病疫苗、狂犬病疫苗。可以说巴斯德是微生物学和免疫学的奠基人，至此医学微生物学亦成为一门独立的学科。

英国外科医生李斯德（Lister，1827—1912）受巴斯德研究工作的启发，认识到伤口感染可能与微生物感染有关，便采用苯酚（石炭酸）喷洒手术室并采用煮沸法处理手术器械，创立了外科无菌手术，促进了外科学的发展。

德国医生郭霍（Robert koch，1843—1910）（绪图2）是另一位微生物学的奠基人，在确认引起传染病的病原菌方面做了大量工作。他创用了固体培养基，借此可从患者排泄物或其他标本中分离出单个菌落，利于对各种纯培养细菌分别研究，以确定细菌与疾病间的关系。同时他还建立了染色方法和实验性动物感染,有利于鉴别各种传染病的病原体。炭疽芽胞杆菌是他分离的第一种细菌，为证实该菌是病原菌，郭霍将该菌接种于健康动物，引起相同的疾病后，再从该动物体内分离出同样的细菌。据此他提出了确定病原微生物的标准，即著名的郭霍法则（Koch's postulate）。在当时对鉴定病原体起到了重要的指导作用,奠定了研究微生物致病性的基础。他密切联系临床实际工作，由他和他带动的一大批学者还相继发现了许多对人和动物致病的重要病原菌，如结核分枝杆菌、霍乱弧菌、脑膜炎奈瑟菌、痢疾志贺菌、白喉棒状杆菌等，开创了细菌学研究的“黄金时代”，促进了病原微生物学的发展。



绪图1　Louis Pasteur（1822—1895）

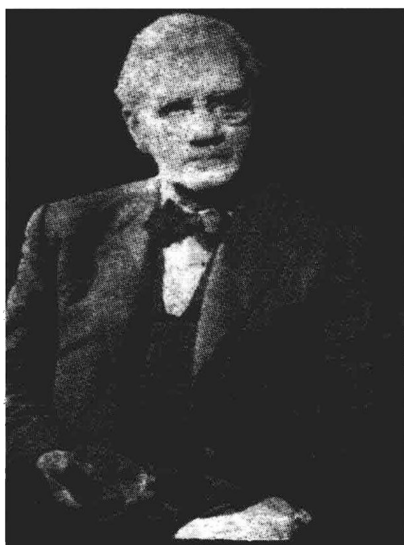


绪图2　Robert Koch（1843—1910）

俄国学者伊凡诺夫斯基（Iwanovski，1864—1920）在1892年发现烟草花叶病的烟叶汁通过除菌滤器后仍具有感染性。1898年荷兰科学家贝杰林克（Beijerinck，1851—1931）重复上述试验后，指出烟叶汁中确实存在一种比细菌更小的传染性病原体，开创了人类对病毒的认识。同时Loeffler和Frosch发现患口蹄疫动物的淋巴液中也含有能通过除菌滤器的感染性物质，称滤过性病毒。1901年第一个人类病毒——黄热病毒由美国科学家Walter-Reed首先分离成功。1951年英国学者Twort发现了细菌病毒（噬菌体）。在20世纪早期，植物病毒、动物病毒、人类病毒和细菌病毒相继被分离出来。

随着病原微生物学的发展，人们也在不断探索防治传染性疾病的方法。英国医师琴纳（Edward Jenner，1749—1823）在18世纪末采用牛痘来预防天花，是近代抗感染免疫的开端。随后巴斯德研

制成炭疽病疫苗和狂犬病疫苗，德国学者贝林格（Behring）在1891年用白喉抗毒素成功地治疗白喉患儿，推动了预防医学和抗感染免疫的发展。在研制抗病原菌的药物方面，德国化学家欧立希（Ehrlich）首先合成化学治疗剂"606"，开创了微生物传染性疾病的化学治疗途径。此后一系列的磺胺类药物相继合成并得到广泛应用。1929年英国细菌学家弗莱明（Alexander Fleming，1881—1955）（绪图3）意外发现污染的青霉菌在固体培养基上可抑制葡萄球菌生长的现象，由此制备出青霉素滤液作进一步研究。1940年弗洛瑞（H.W. Florey）等提取出青霉素G的纯品，经临床验证有抗感染的确切疗效。青霉素的成功研制为抗生素的研究和生产翻开了第一页，由此鼓舞了人们寻找从微生物来源的具有抗菌活性的化合物，如链霉素、氯霉素、四环素、头孢霉素、红霉素、庆大霉素等抗生素相继被发现并广泛应用于临床。抗生素的发现给感染性疾病的治疗带来了新曙光。为此，弗莱明、弗洛瑞和钱恩在1945年获得了诺贝尔奖金。


绪图3　Alexander Fleming（1881—1955）


绪图4　汤飞凡（1897—1958）

三、现代微生物学时期

进入20世纪中期，随着物理学、生物化学、遗传学、细胞生物学和分子生物学等学科的发展，许多高新科技和新仪器设备应运而生，如电子显微镜、电子计算机、细胞培养、免疫学技术、分子生物学技术等日新月异，也促进了微生物学的迅速发展，近20年来，一大批快速、特异的微生物学诊断方法相继建立，如单克隆抗体技术、免疫荧光技术、酶联免疫吸附试验（ELISA）、聚合酶链反应（PCR）以及基因探针杂交技术等，其敏感性高，特异性强，容易操作和普及，为人类提供了新研究方法和手段，加速了人类对病原微生物结构与功能的认识。进而使研究从细胞水平深入到分子水平，探索病原微生物基因组结构、基因表达、致病机制及其疾病的诊、防、治方法。

由于人类自身的不断努力和卫生条件的迅速改善，某些病原微生物被有效地控制或消灭，传染病的发病率显著降低。在这一背景下，国外有少数学者曾提出"现在是应该关上《传染病学》这门教科书的时候了"，这一论断低估了病原微生物对人类的危害性，少数院校甚至砍掉了医学微生物学专业。从20世纪70年代以来，新的病原微生物及相关的传染病相继被发现达40多种，例如军团菌、霍乱弧菌O139血清群，幽门螺杆菌，伯氏疏螺旋体，人类免疫缺陷病毒（HIV），轮状病毒，新型肝炎病毒（HCV、HDV、HEV、HGV等），人类疱疹病毒6、7、8型，埃博拉病毒，西尼罗河病毒，SARS冠状病毒等。传染病重新成为重大的公共卫生问题，人类面临着新出现和再出现的传染病的双重威胁。据世界卫生组织（WHO）报告，全球平均每年有1700多万人死于各类传染病，其中对人类危害最大的HIV，在2007年全球新增加HIV感染者约250万人，在全世

界已累计感染3320万人。艾滋病正在全球范围迅速蔓延，尤其以非洲和亚洲地区最为严重。我国HIV感染者已达84多万人，其中艾滋病患者达8万人。从1985年至今，我国累计的HIV感染者达100万，在亚洲居第二位。在2003年上半年，SARS在我国暴发流行，继而波及到全球32个国家和地区，造成了重大的公共卫生事件。SARS的突然袭击给人们敲响了警钟。至2010年初，新型甲型H1N1流感已经波及到全球200多个国家和地区，甲型H1N1流感病毒的感染者达30多万例，其中有近2万例死亡。目前全球每年有900多万新结核病病例，其中有50万是耐多药的病例，有170万结核病人死亡。因此我们必须提高对传染性疾病的全球预警和应对的能力。

人类对病原微生物基因组的研究已取得了重要成果。实际上人类基因组的研究工作，就是基于早期病毒基因组研究的工作基础之上而得以发展的。现今人们从发现感染性疾病到确认其病原体的周期已显著缩短，一般只需3年左右。截至2009年8月，已完成近900株细菌基因组测序，其中包括流感嗜血杆菌、结核分枝杆菌、幽门螺杆菌等，有近3000株细菌基因组正在测序之中。今后将进一步确定引起免疫应答抗原的基因或致病的毒力基因。在此基础上，对于病原微生物相关基因的调控、致病的物质基础及其与宿主细胞间的相互作用等致病机制，研究也更加深入，这将有助于人类研制疫苗或开发抗感染药物。

新型疫苗的研制工作发展很快，从过去的全菌体死菌苗，经历了减毒活疫苗、亚单位疫苗、基因工程疫苗以及核酸疫苗（又称DNA疫苗）等发展阶段。传统的疫苗不能有效诱导体内细胞免疫，核酸疫苗则能在体内诱导有效的细胞免疫和体液免疫，这为预防结核病、艾滋病等传染病提供了有效途径。疫苗的种类向多联疫苗（如DTP-HB、DTP-Hib和DTP-IPV等）、黏膜疫苗、缓释疫苗等多样化发展，疫苗的接种途径提倡口服、单剂注射、喷雾吸入或表皮透释等。为了增强疫苗的免疫原性，新的疫苗佐剂也不断被开发，如霍乱毒素B亚单位、大肠杆菌不耐热肠毒素、乙酰胞壁酸等。经过人们的长期努力，1980年5月WHO宣布全球已彻底消灭天花，WHO还计划近年在全球消灭脊髓灰质炎。随着人类计划免疫的实施，许多严重危害人类健康的感染性疾病都会被征服。

在医学微生物学及其相关学科的发展中，全球有近60位科学家因有突出贡献而荣获诺贝尔奖，可见医学微生物学在生命科学中的重要地位（绪表1）。我国学者也为此作出了重大贡献。在20世纪30年代，我国学者黄祯祥研究马脑炎病毒时，发现有病毒增殖的组织培养液与无病毒增殖的培养液相比较，其pH有显著差别，首创了病毒体外细胞培养新技术，为现代病毒学奠定了基础。我国第一代病毒学家汤飞凡（绪图4）采用鸡胚卵黄囊接种和加链霉素抑菌的技术，在1955年首次分离出沙眼衣原体（当时尚称作沙眼病毒——“汤氏病毒”），是世界上发现重要病原体的第一个中国人，也是迄今为止中国医学微生物学家被世界所承认的最高成就。我国病毒学家朱既明在国际上首次将流感病毒裂解为亚单位，提出了流感病毒结构图像，为以后研究亚单位疫苗提供了原理和方法。

我国在病原微生物研究和预防医学方面也取得了公认的重大成就，有关流行性出血热的病因、鼻咽癌的发病机制以及甲、乙、丙、丁、戊、庚型肝炎病毒以及SARS冠状病毒的研究等已进入世界前列，基因工程生产的乙型肝炎疫苗和干扰素已大量投放市场，我国研制的SARS的灭活疫苗已完成Ⅰ期临床实验。我国已控制了包括鼠疫、霍乱等在内的烈性传染病，其发病率显著降低。

医学微生物学的发展前景

为了促进医学微生物学的发展，有效控制和消灭传染病，我们还应该继续加强以下方面的研究：

1. 新现（emerging）与再现（re-emerging）病原微生物的研究　病原微生物仍然是对人类健康的主要威胁，新出现的传染病（如AIDS，出血热，丙、戊、庚型肝炎，军团病，克-雅病，SARS，高致病性禽流感等）由新病原体引起，而再出现的传染病（如结核、狂犬、霍乱、登革热、鼠疫等）多由病原体变异或多重耐药引起（绪表2）。在我国新出现的传染病已达14种。此外，目前国际上还存在着生物武器袭击和威胁的危险，人为地引发公共卫生问题和社会问题。因此，应从分子水平上研究病原微生物的变异规律、毒力、耐药机制及其致病特点。

绪表1 与医学微生物学相关的诺贝尔奖获得者

获奖时间	获奖者	主要成就
1901	Emil von Behring（德国）	1890年制成白喉抗毒素血清，建立血清治疗方法
1905	Robert Koch（德国）	1882年分离、鉴定结核分枝杆菌，霍乱弧菌；提出细菌致病学说
1928	Charles Nicolle（法国）	1910年发现斑疹伤寒的传播媒介是体虱
1939	Gerhard Domagk（德国）	1935年发现磺胺的抗菌作用
1945	Alexander Fleming（英国）	1929年Fleming发现青霉素具有抗菌作用
	Emst Chain（英国）	1940年Chain和Florey分离纯化了青霉素，开创了抗生素时代
	Howard Florey（澳大利亚）	
1946	Wendell Stanley（美国） John Northrop（美国）	1935年发现纯化结晶的烟草花叶病毒仍具有感染性，制备出病毒晶体
1951	Max Theiler（南非）	1937年将黄热病病毒经鼠传代制成黄热病疫苗
1952	Selman Waksman（美国）	1944年发现链霉素
1954	John Enders（美国） Thomas Weller（美国） Frederick Robbins（美国）	1949年建立了脊髓灰质炎病毒体外培养方法
1958	Joshua Lederberg（美国）	1952年通过影印培养方法证明细菌的耐药性和抗噬菌体变异无需接触药物和噬菌体就能发生，促进了细菌遗传学研究
1965	Francois Jacob（法国） Jacques Monod（法国）	1960年Jacob和Monod发现细菌蛋白合成的乳糖操纵子模型（Lac operon）
1966	Peyton Rous（美国）	1911年发现鸡肉瘤病毒，证明Rous病毒可致肿瘤
1969	Max Delbruck（美国） Alfred Hershey（美国） Salvador Luria（美国）	1943年通过噬菌体研究提出病毒的感染机制
1975	David Baltimore（美国） Renato Dulbecco（美国） Howard Temin（美国）	1970年发现某些肿瘤病毒含逆转录酶，证明遗传信息可从RNA流向DNA
1976	Baruch Blumberg（美国）	1963年Blumberg发现澳抗，继而发现了乙型肝炎病毒
	Carleton Gajdusek（美国）	Gajdusek发现Kuru病、羊瘙痒病是由慢病毒引起
1978	Wemer Arber（瑞士） Daniel Nathans（美国） Hamilton Simith（美国）	1962年Nathans用E.coli无细胞提取物表达f2噬菌体衣壳蛋白；1967年Arber发现细菌甲基化酶；1970年Smith发现细菌限制性内切酶，后广泛用于分子生物学研究
1980	Paul Berg（美国）	1972年Berg将λ噬菌体基因和E.coli的半乳糖操纵子（galactose operon）插入到SV40 DNA中，开创基因重组技术
1984	kohler G（德国）	用杂交瘤技术制备单克隆抗体
1989	J. Mechael Bioshop（美国） Harold Varmus（美国）	1976年发现Rous鸡肉瘤病毒的癌基因也存在于动物和人类细胞，提出原癌基因（proto-oncogene）概念
1993	Kary Mullis（美国）	1988年从耐热菌*Thermus aquaticus*中分离耐热DNA聚合酶，建立聚合酶链反应（PCR）
1997	Stanley Prusiner（美国）	提出朊粒（prion）是羊瘙痒病和疯牛病的病因
2005	Barry J Marshall（澳大利亚） J.Robin Warren（澳大利亚）	1983年，从胃炎组织标本中分离出幽门螺杆菌，并证实该菌是胃炎及消化道溃疡的病原菌
2008	Harald Zur Hausen（德国）	发现乳头瘤病毒是宫颈癌的病原体
	Francoise Barre-Sinoussi（法国）	发现HIV是AIDS的病原体
	Luc Montagnier（法国）	

绪表2 近年发现的重要病原微生物

时间	病原微生物	所致疾病
1973	轮状病毒（rotavirus）	婴儿腹泻
1975	细小病毒B19（Parvovirus B19）	慢性溶血性贫血（fifth disease）
1977	埃博拉病毒（Ebola virus）	出血热
1977	嗜肺军团菌（*Legionella pneumophila*）	军团菌病（Legionaires' disease）
1977	空肠弯曲杆菌（*Campylobacter jejuni*）	肠炎（enteritis）
1978	汉滩病毒（Hantaan virus）	肾综合征出血热（HFRS）
1980	嗜人T淋巴细胞白血病毒Ⅰ型（human T lymphotropic virus，HTLV-1）	成人T淋巴细胞白血病（adult T cell leukaemia）
1982	大肠埃希菌O157（*Escherichia coli O157：H7*）	肠出血性综合征（haemolytic uraemic syndrome）
1982	嗜人T淋巴细胞白血病毒Ⅱ型（HTLV-Ⅱ）	毛细胞白血病（hairy cell leukaemia）
1982	伯氏疏螺旋体（*Borrelia burgdorferi*）	莱姆病（Lyme disease）
1983	人免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus，HIV）	艾滋病（AIDS）
1983	肺炎衣原体（*Chlamydia pneumoniae*）	肺炎衣原体病
1983	幽门螺杆菌（*Helicobacter pylori*）	胃炎（gastritis）及消化道溃疡
1986	朊粒（prion）	变异型克-雅病（疯牛病）
1986	人疱疹病毒-6（human herpesvirus 6，HHV-6）	突发蔷薇病（exanthem subitum）
1988	戊型肝炎病毒（hepatitis E virus）	戊型肝炎（hepatitis E）
1989	丙型肝炎病毒（hepatitis C virus）	丙型肝炎（hepatitis C）
1992	霍乱弧菌O139（*Vibrio cholerae O139*）	流行性霍乱（epidemic cholera）
1992	汉氏巴尔通体（*Bartonella henselae*）	猫抓病（cat scratch disease）
1993	辛诺柏病毒（Sin nombre virus）	呼吸窘迫综合征（hantavirus pulmonary syndrome）
1994	人疱疹病毒-8（HHV-8）	卡波济肉瘤（Kaposi's sarcoma）
1994	Sabia病毒	巴西出血热
1995	庚型肝炎病毒（hepatitis G virus）	庚型肝炎（hepatitis G）
1999	西尼罗病毒（West Nile virus，WNV）	西尼罗热
1999	尼派病毒（Nipah virus）	病毒性脑炎
2003	SARS冠状病毒（SARS coronavirus）	严重急性呼吸综合征（SARS）
2004	高致病性禽流感病毒H5N1	人感染高致病性禽流感
2006	变异的猪链球菌（Ⅱ型）	猪链球菌病
2009	新甲型H1N1流感病毒	甲型H1N1流感

2. 病原微生物致病机制的研究　医学微生物学除了研究病原微生物的基因组与功能基因组结构，寻找病原体的致病基因或致病相关基因外，还要开展微生物蛋白组学（microbial proteomics）的研究，搞清微生物基因与蛋白质、蛋白质与蛋白质的相互调控作用，才能更深入地研究病原微生物与宿主细胞之间，特别是与机体整体相互间的作用，才能从分子水平、细胞水平和整体水平来全面分析和揭示致病的机制。

3. 加强生物安全的管理　当前全球已进入高新生物技术快速发展的时期，更需要注意保护环境的卫生安全和人类的身体健康。如何预防致病性微生物等生物因子造成实验室人员伤害，或避免危险生物因子污染环境，需要进行深入的研究，其中包括了病原微生物实验室的生物安全以及突发性公共卫生事件的应急反应和正确处理。例如在病原微生物试验中样本的采集、运送、分离培养、鉴定或储存等过程，实验室对微生物基因的改造而由此产生的生物安全问题。我们要建立标准化的实验室生物安全体系，加强监测、预警和控制突发性公共卫生事件的发生，微生物学工作者，公共卫

生医师与临床医师应密切配合，建立突发性公共卫生事件的应急处理系统。

4. 建立标准化的微生物学诊断方法及技术　实践证明，实验技术或方法的创新或建立在推动学科发展方面有重要作用。目前，传统的细菌生化反应鉴别方法已被自动化检测仪器或试剂盒取代，PCR、核酸杂交等微生物基因诊断方法以及血清学检测技术已被广泛采用。但随着新现或再现病原微生物增多，应该不断改进和提高检测方法的敏感性和特异性，尽量与国际标准化接轨，以发现和确认新现传染病的病原体。采用传统的微生物学技术与现代分子生物学技术相结合是发现新病原体的有效手段。现代分子生物学技术（包括基因诊断技术）在某些难以用传统微生物学技术发现其病原体的新现传染病病原中，可发挥重要作用。要研究病原体的生物学特性，还必须在生物安全实验室内分离和培养出病原体。

5. 抗感染免疫的基础理论及其应用的研究　众所周知预防疾病的效果优于临床治疗，而且能节约大量的经费和物力。因此应提倡疫苗免疫，研制更多的新型抗感染疫苗。有关病原微生物的有效抗原决定簇、抗原递呈的机制、新型佐剂的开发、免疫应答的调控等基础理论还值得进一步深入研究。重组疫苗、嵌合疫苗、核酸疫苗以及多联疫苗等虽然已显示出优越性，但对其作用机制、稳定性、免疫效应持续时间以及副作用等还应继续追踪。

6. 抗感染药物的研制与开发　抗微生物的药物主要包括化学治疗剂和抗生素。目前最缺乏的是抗病毒药物和抗真菌药物，应重点研制和开发。除核苷类、非核苷类和蛋白酶抑制剂外，还可从抑制病毒基因的复制与表达水平入手，筛选出能抑制病毒所特有的某些酶的药物。此外，耐药菌株或耐药病毒株大量出现，应从分子水平研究其耐药变异的机制，才能有针对性的研制出相应药物或改进药物作用的靶点。根据我国的国情，应重点开发抗感染的天然药物（如中草药、微生物次级代谢产物、海洋生物中活性物质等）。随着对微生物基因组学和代谢产物的深刻认识，可充分利用微生物资源，人类可以从放线菌、真菌、海洋细菌或其他微生物代谢产物中筛选出不同种类的新生理活性物质，促进医药工业的发展，使微生物造福于人类。

随着人类社会的进步和医学的发展，我们相信大部分传染病将被控制在较低的发病率，少数传染病将被消灭。微生物的多样性将永远伴随人类而存在，还将会出现新的病原微生物及其新传染病。因此，医学微生物学工作者及广大医务人员任重而道远，在21世纪必将在生命科学领域继续作出更大的贡献。

（贾文祥）

第一篇 细 菌 学

第一章 细菌的基本性状

细菌（bacterium）是原核细胞型微生物，有广义和狭义两种范畴。广义上包括细菌、放线菌、支原体、衣原体、立克次体、螺旋体。狭义则专指其中数量最大、种类最多、具有典型代表性的细菌，是本章讨论的对象。它们是单细胞，形体微小，结构简单，代谢活跃而且多样化，繁殖迅速是其最显著的特点。了解细菌的形态、结构及生理活动等基本性状，对研究细菌的致病性和免疫性，以及鉴别细菌、诊断和防治细菌性感染等具有重要的理论和实际意义。

Bacterium is a single-cell microorganism and belongs to Prokaryote.The Gram Stain is an effective criterion for classification that divides bacteria into two major groups，Gram-positive（G^+）and Gram-negative（G^-）bacteria. Shapes of bacterium may be spherical（coccus），rod-shaped（bacillus），comma-shaped（vibrio） or spiral（spirillum）when they are grown in being traditionally “planktonic” cells. The cell wall of bacteria lies outside cytoplasmic membrane；the peptidoglycan is a common component of G^+ and G^- bacteria.

Peptidoglycan The peptidoglycan of gram-positive bacteria consists of a backbone，composed of alternating N-acetyl-glucosamine and N-acetylmuramic acid，a set of tetrapeptide side chains attached to N-acetylmuramic acid and a set of peptide cross-bridges. The peptidoglycan of gram-negative bacteria is only composed of polysaccharide backbones and tetrapeptide side chains. Besides peptidoglycan most G^+ cell walls contain considerable amounts of teichoic and teichuronic acids. There are two types of teichoic acid：wall teichoic acid and membrane teichoic acid（lipoteichoic acid）.

Special components of G^- cell walls G^- cell walls contain lipoprotein，outer membrane and lipopolysaccharide（LPS）that lie outside of the peptidoglycan layer. LPS consists of lipid A，to which is attached a polysaccharide made up of a core and terminal series of repeat units（O antigen）.

L-forms of bacteria These are abnormal growth forms that may arise spontaneously or by the inhibition of cell wall synthesis in bacteria，which from the G^+ bacteria is called protoplasts and which from the G^- bacteria is called spheroplasts.

Special structure of bacteria

Capsule The capsule is a gelatinous layer covering the bacterium.It is composed of polysaccharid，except in the anthrax bacillus（poly-D-glutamic acid capsule）. The capsule contributes to the invasiveness of pathogenic bacteria-encapsulated cells are protected from phagocytosis.The capsule may play a role in the adherence of bacteria to human tissues，which is an important initial step in causing infection.

Flagella　Flagella are long，thin，thread-like appendages that move the bacteria toward nutrients and other attractants.They are composed of many subunits of flagellin which are highly antigenic（H antigens）. They may play a role in pathogenesis by propelling the bacteria to the surface of mucous membrane in urinary or intestinal tract infections.

Pili（Fimbriae）　Pili are hairlike filaments that extend from the cell surface.They are shorter and straighter than flagella and are composed of subunits termed pilins. Pili mediate the attachment of bacteria to specific receptors on the human cell surface，which is a necessary step in the initiation of infection.The sex pilus forms the attachment between the donor and recipient bacteria during conjugation.

Spore　Some bacteria，such as bacillus and clostridium，develop a highly resistant resting phase or spore.The spore forms inside the cell and its appearance varies according to the species.Spore formation occurs when nutrients are depleted and does not involve multiplication.The medical importance of spores lies in their extra ordinary resistance to heat and chemicals.

Bacterial growth　The essential conditions for bacterial growth include appropriate nutrients，pH，temperature and atmosphere. According to their growth oxygen requirement，bacteria are categorized as follows：obligate aerobe，obligate anaerobe，facultative anaerobe and microaerophilic bacteria.Bacterial growth curve in a broth possesses four major phases：lag phase，exponential（log）phase，stationary phase and decline phase.Besides catabolism bacteria are able to synthesize their self-components，they give medically important products in the synthetic metabolism processes，such as pyrogen，toxin，enzyme，vitamin，pigment，antibiotic，bacteriocin.

Classification of bacteria

The bacterial classification is based on Bergey's Manual of Systematic Bacteriology which serves as an aid in the identification of those bacteria that have been described and cultured.The methods of bacterial classification can be divided into the artificial classification and the phylogenetic classification. A major success in molecular phylogeny has been the demonstration that prokaryotes fall into two groups：bacteria and archaebacteria.

第一节　细菌的形态结构与理化性状

一、细菌的大小与形态

观察细菌最常用的仪器是光学显微镜，其大小可以用测微尺在显微镜下进行测量，一般以微米（μm）为单位。细菌的形态因其生长的环境不同而异。在营养丰富的培养条件下，细菌在自由悬浮的浮游（planktonic）状态下，按其外形，主要有球菌、杆菌和螺形菌三大类（图1-1）。在自然界及人和动物体内，绝大多数细菌是黏附在有生命或无生命物体的表面，以生物被膜（biofilm）的形式存在。

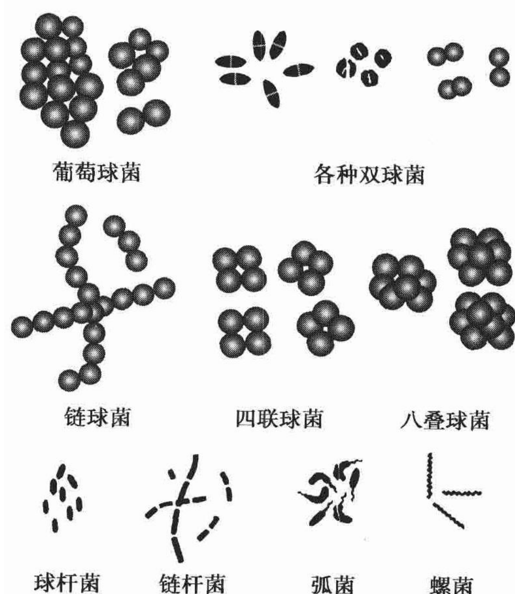


图1-1　细菌的基本形态

球菌　多数球菌（coccus）直径在1μm左右，外观呈圆球形或近似球形。由于繁殖时细菌分裂平面不同和分裂后菌体之间相互黏附程度不一，可形成不同的排列方式，这对一些球菌的鉴别颇有意义。

1. 双球菌（diplococcus）　在一个平面上分裂，分裂后两个菌体成对排列，如脑膜炎奈瑟菌。

2. 链球菌（streptococcus）　在一个平面上分裂，分裂后多个菌体粘连成链状，如乙型溶血性链球菌。

3. 葡萄球菌（staphylococcus）　在多个不规则的平面上分裂，分裂后菌体无一定规则地粘连在一起似葡萄状，如金黄色葡萄球菌。

4. 四联球菌（tetrads）　在两个互相垂直的平面上分裂，分裂后四个菌体黏附在一起呈正方形，如四联加夫基菌。

5. 八叠球菌（sarcina）　在三个互相垂直的平面上分裂，分裂后八个菌体黏附成包裹状立方体，如藤黄八叠球菌。

各类球菌在标本或培养物中除上述的典型排列方式外，还可有分散的单个菌体存在。

杆菌　不同杆菌（bacillus）的大小、长短、粗细很不一致。大的杆菌如炭疽芽胞杆菌长3～10μm，中等的如大肠埃希菌长2～3μm，小的如布鲁菌长仅0.6～1.5μm。

杆菌形态多数呈直杆状，也有的菌体稍弯；多数呈分散存在，也有的呈链状排列，称为链杆菌（streptobacillus）；菌体两端大多呈钝圆形，少数两端平齐（如炭疽芽胞杆菌）或两端尖细（如梭杆菌）。有的杆菌末端膨大成棒状，称为棒状杆菌（corynebacterium）；有的菌体短小，近于椭圆形，称为球杆菌（coccobacillus）；有的常呈分枝生长趋势，称为分枝杆菌（mycobacterium）；有的末端常呈分叉状，称为双歧杆菌（bifidobacterium）。

螺形菌　螺形菌（spiral bacterium）菌体弯曲，有的菌体长2～3μm，只有一个弯曲，呈弧形或逗点状称为弧菌（vibrio），如霍乱弧菌；有的菌体长3～6μm，有数个弯曲称为螺菌（spirillum），如鼠咬热螺菌；也有的菌体细长弯曲呈弧形或螺旋形，称为螺杆菌（helicobacterium），如幽门螺杆菌。

细菌的形态受温度、pH、培养基成分和培养时间等因素影响很大。一般细菌在适宜的生长条件下培养8～18小时形态比较典型，在不利环境或菌龄老时常出现梨形、气球状和丝状等不规则的多形性（polymorphism），称为衰退型（involution form）。因此观察细菌的大小和形态，应选择适宜生长条件下的对数生长期为宜。

二、　细菌的结构

细菌虽小，仍具有一定的细胞结构（图1-2）和功能。细胞壁、细胞膜、细胞质和核质等各类细菌都有，是细菌的基本结构；荚膜、鞭毛、菌毛、芽胞仅某些细菌具有，为其特殊结构。

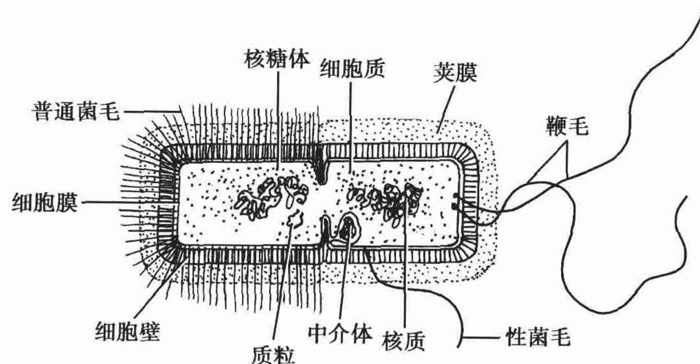


图1-2　细菌细胞结构模式图

（一）细菌的基本结构

细胞壁　细胞壁（cell wall）位于菌细胞的最外层，包绕在细胞膜的周围。是一种膜状结构，组成较复杂，并随细菌不同而异。用革兰染色法可将细菌分为两大类，即革兰阳性菌和革兰阴性菌。两类细菌细胞壁的共有组分为肽聚糖，但各自有其特殊组分。

1. 肽聚糖（peptidoglycan） 肽聚糖是一类复杂的多聚体，是细菌细胞壁中的主要组分，为原核细胞所特有，又称为黏肽（mucopeptide）、糖肽（glycopeptide）或胞壁质（murein）。革兰阳性菌的肽聚糖由聚糖骨架、四肽侧链和五肽交联桥三部分组成（图1-3），革兰阴性菌的肽聚糖仅由聚糖骨架和四肽侧链两部分组成（图1-4）。目前已知100多种不同的肽聚糖类型，它们的最大不同出现在四肽侧链的联结方式上，但其结构组成在所有分子形式上都不外乎上述的两大类。

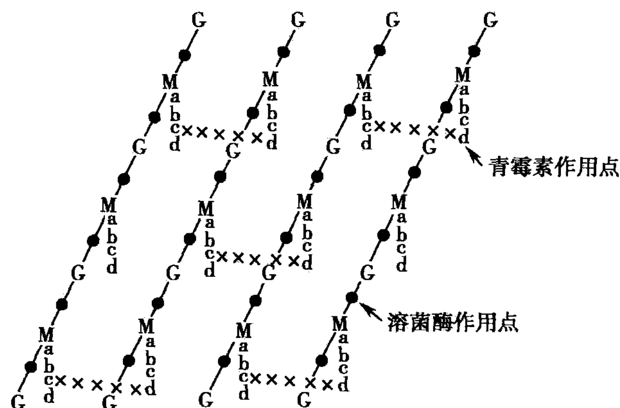


图1-3 金黄色葡萄球菌细胞壁的肽聚糖结构
M：*N*-乙酰胞壁酸；G：*N*-乙酰葡糖胺；●：β-1,4糖苷键；abcd：四肽侧链；×××××：五肽交联桥

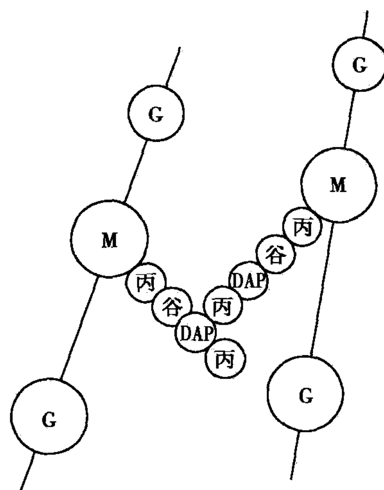


图1-4 大肠埃希菌细胞壁的肽聚糖结构

聚糖骨架由*N*-乙酰葡糖胺（*N*-acetylglucosamine）和*N*-乙酰胞壁酸（*N*-acetylmuramic acid）交替间隔排列，经β-1,4糖苷键联结而成。各种细菌细胞壁的聚糖骨架均相同。

四肽侧链的组成和联结方式随菌不同而异。如葡萄球菌（革兰阳性菌）细胞壁的四肽侧链的氨基酸依次为L-丙氨酸、D-谷氨酸、L-赖氨酸和D-丙氨酸；第三位的L-赖氨酸通过由五个甘氨酸组成的交联桥连接到相邻聚糖骨架四肽侧链末端的D-丙氨酸上，从而构成机械强度十分坚韧的三维立体结构。在大肠埃希菌（革兰阴性菌）的四肽侧链中，第三位氨基酸是二氨基庚二酸（diaminopimelic acid，DAP），并由DAP与相邻四肽侧链末端的D-丙氨酸直接连接，没有五肽交联桥，因而只形成单层平面网络的二维结构。其他细菌的四肽侧链中第三位氨基酸变化最大，大多数革兰阴性菌为DAP，而革兰阳性菌可以是DAP、L-赖氨酸或其他L-氨基酸。

2. 革兰阳性菌细胞壁特殊组分 革兰阳性菌的细胞壁较厚（20～80nm），除含有15～50层肽聚糖结构外，大多数尚含有大量的磷壁酸（teichoic acid），少数是磷壁醛酸（teichuronic acid），约占细胞壁干重的50%（图1-5）。

磷壁酸是由核糖醇（ribitol）或甘油残基经磷酸二酯键互相连接而成的多聚物，其结构中少数基团被氨基酸或糖所取代，多个磷壁酸分子组成长链穿插于肽聚糖层中。按其结合部位不同，分为壁磷壁酸（wall teichoic acid）和膜磷壁酸（membrane teichoic acid）两种。前者的一端通过磷脂与肽聚糖上的胞壁酸共价结合，另一端伸出细胞壁游离于外。膜磷壁酸，或称脂磷壁酸（lipoteichoic acid，LTA），一端与细胞膜外层上的糖脂共价结合，另一端穿越肽聚糖层伸出细胞壁表面呈游离状态。

此外，某些革兰阳性菌细胞壁表面尚有一些特殊的表面蛋白质，如金黄色葡萄球菌的A蛋白，A群链球菌的M蛋白等。

3. 革兰阴性菌细胞壁特殊组分 革兰阴性菌细胞壁较薄（10～15nm），但结构较复杂。除含有1～2层的肽聚糖结构外，尚含有三种特殊组分，即脂蛋白（lipoprotein）、外膜（outer membrane）和脂多糖（lipopolysaccharide，LPS），约占细胞壁干重的80%（图1-6）。

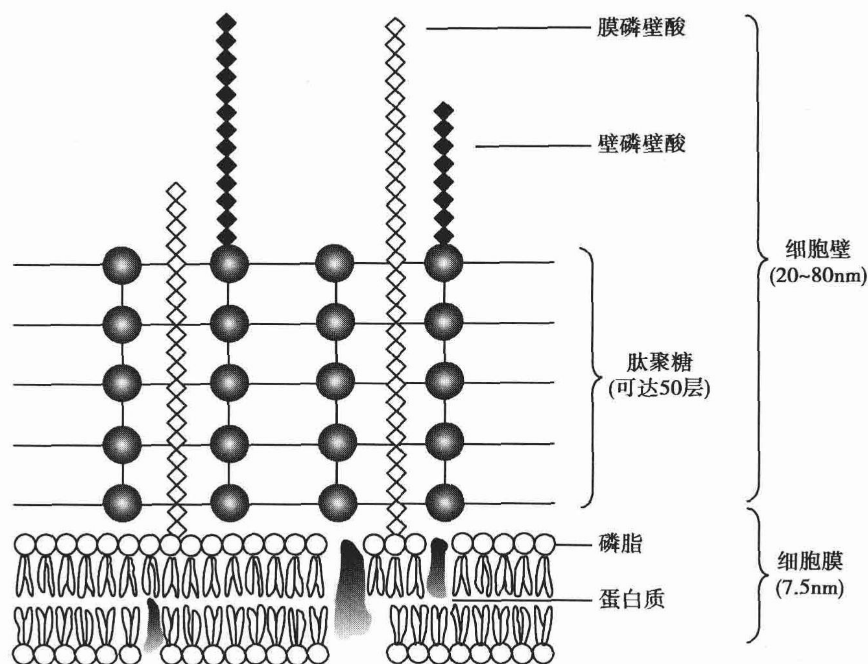


图1-5　G⁺菌细胞壁结构模式图

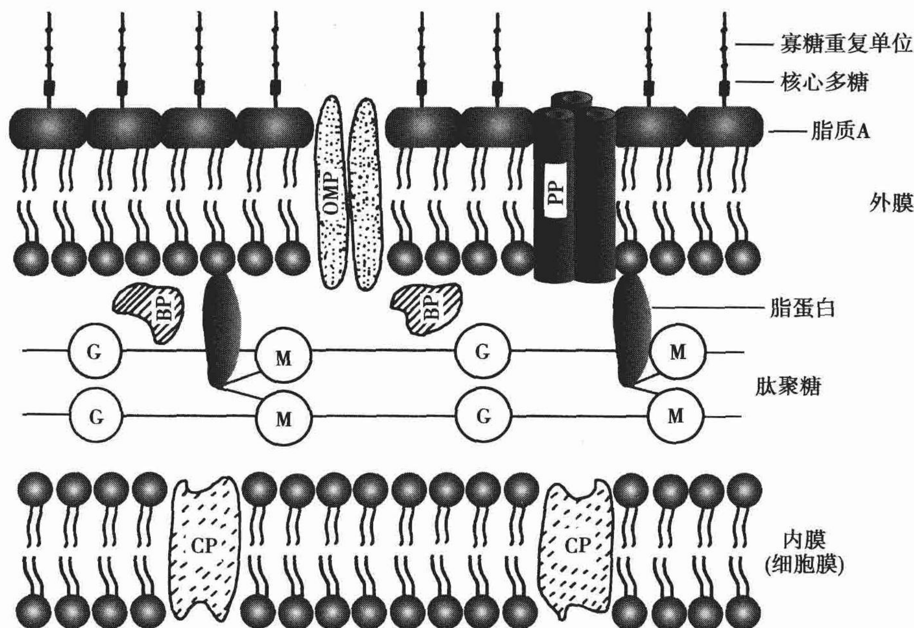


图1-6　G⁻菌细胞壁结构模式图

OMP：外膜蛋白；PP：孔蛋白；BP：结合蛋白；CP：载体蛋白

脂蛋白位于肽聚糖层和外膜之间，其蛋白质部分与肽聚糖侧链的二氨基庚二酸相连，其脂质成分与外膜非共价结合，使外膜和肽聚糖层构成一个整体。外膜是双层结构，其内小叶与生物膜（细胞膜）组成相似，外小叶则含有脂多糖，形成不对称结构。外膜内镶嵌着多种蛋白质称为外膜蛋白（outer membrane protein，OMP），其中有的为孔蛋白（porin），是由三个相同亚基构成的穿膜蛋白，联合起来形成直径约1nm的膜孔，如大肠埃希菌的OmpF（1.16nm）、OmpC（1.08nm），允许低分子量（相对分子质量≤600）的亲水性分子的被动扩散；有的为诱导性或去阻遏蛋白质，参与特殊物质的扩散过程；有的为噬菌体、性菌毛或细菌素的受体。由外膜向细胞外伸出的是脂多糖。脂多糖由脂质A、核心多糖和特异多糖三部分组成，即革兰阴性菌的内毒素（endotoxin）。

（1）脂质A（lipid A）：为一种糖磷脂，由β-1′，6糖苷键相连的D-氨基葡萄糖双糖组成的基本骨架，双糖骨架的游离羟基和氨基可携带多种长链脂肪酸和磷酸基团。不同种属细菌的脂质A骨架基本一致，其主要差别是脂肪酸的种类和磷酸基团的取代不尽相同，其中β-羟基豆蔻酸是肠道杆菌所共有的。脂质A是内毒素的毒性和生物学活性的主要组分，无种属特异性，故不同细菌产生的内毒素的毒性作用均相似。

（2）核心多糖（core polysaccharide）：位于脂质A的外层，由己糖（葡萄糖、半乳糖等）、庚糖、2-酮基-3-脱氧辛酸（2-keto-3-deoxyoctonic acid，KDO）、磷酸乙醇胺等组成。经KDO与脂质A共价联结。核心多糖有属特异性，同一属细菌的核心多糖相同。

（3）特异多糖（specific polysaccharide）：是脂多糖的最外层，由数个至数十个低聚糖（3～5个单糖）重复单位所构成的多糖链。特异多糖即革兰阴性菌的菌体抗原（O抗原），具有种特异性，因其多糖中单糖的种类、位置、排列和空间构型各不相同所致。特异多糖的缺失，细菌菌落从光滑（smooth，S）型变为粗糙（rough，R）型。

另外，少数革兰阴性菌（脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、流感嗜血杆菌等）的LPS结构不典型，其外膜糖脂含有短链分枝状聚糖组分（与缺少O抗原的粗糙型肠道菌的LPS相似），称为脂寡糖（lipooligosaccharide，LOS）。它与哺乳动物细胞膜的鞘糖脂结构非常相似，从而使这些细菌逃避宿主免疫细胞的识别。LOS作为重要的毒力因子受到关注。

在革兰阴性菌的细胞膜和外膜之间有一空隙，约占细胞体积的20%～40%，称为周浆间隙（periplasmic space）。该间隙含有多种蛋白酶、核酸酶、解毒酶及特殊结合蛋白，在细菌获得营养、解除有害物质毒性等方面有重要作用。

革兰阳性和阴性菌细胞壁结构显著不同，导致这两类细菌在染色性、抗原性、致病性及对药物的敏感性等方面有很大差异。

4. 细胞壁的功能　细菌细胞壁坚韧而富弹性，其主要功能是维持菌体固有的形态，并保护细菌抵抗低渗环境。细菌细胞质内有高浓度的无机盐和大分子营养物质，其渗透压高达5～25个大气压（1atm=101.33kPa）。由于细胞壁的保护作用，使细菌能承受内部巨大的渗透压而不会破裂，并能在相对低渗的环境下生存。细胞壁上有许多小孔，参与菌体内外的物质交换。菌体表面带有多种抗原表位，可以诱发机体的免疫应答。

革兰阳性菌的磷壁酸是重要表面抗原，与血清型分类有关。它带有较多的负电荷，能与Mg^{2+}等双价离子结合，有助于维持菌体内离子的平衡。磷壁酸还可起到稳定和加强细胞壁的作用。乙型溶血性链球菌表面的M蛋白与LTA结合在细菌表面形成微纤维（microfibrils），后者介导菌体与宿主细胞的黏附，是其致病因素之一。

革兰阴性菌的外膜是一种有效的屏障结构，使细菌不易受到机体的体液杀菌物质、肠道的胆盐及消化酶等的作用；还可阻止某些抗生素的进入，成为细菌天然耐药的机制之一。LPS（内毒素）是革兰阴性菌重要的致病物质，使机体发热，白细胞增多，直至休克死亡。另一方面LPS也可增强机体非特异性免疫力，并有抗肿瘤等有益作用。

5. 细菌细胞壁缺陷型（细菌L型）　细菌细胞壁的肽聚糖受到理化或生物因素的直接破坏或合成被抑制，这种细胞壁受损的细菌一般在普通环境中不能耐受菌体内的高渗透压而胀裂死亡。但在高渗环境下，它们仍可存活。这种细胞壁受损的细菌仍能够生长和分裂者称为细菌细胞壁缺陷型或L型（bacterial L form），因1935年Klieneberger首先在Lister研究院发现而得名。革兰阳性菌细胞壁缺失后，原生质仅被一层细胞膜包裹，称为原生质体（protoplast）；革兰阴性菌肽聚糖层受损后尚有外膜保护，称为原生质球（spheroplast）。

细菌L型在体内或体外、人工诱导或自然情况下均可形成，诱发因素很多，如溶菌酶（lysozyme）和溶葡萄球菌素（lysostaphin）、青霉素、胆汁、抗体、补体等。

细菌L型的形态因缺失细胞壁而呈高度多形性，大小不一，有球形、杆状和丝状等（图1-7）。着

色不匀，无论其原为革兰阳性或阴性菌，形成L型后大多染成革兰阴性。如果采用细胞壁染色法，细菌型可见周边细胞壁染上紫色而中空无色；细菌L型因细胞壁受损或缺失，结晶紫可直接进入细胞，使整个细胞染成紫色。细菌L型难以培养，其营养要求基本与原菌相似，但需在高渗低琼脂含血清的培养基中生长，即必须补充3%～5% NaCl、10%～20%蔗糖或7%聚乙烯吡咯烷酮（PVP）等稳定剂，以提高培养基的渗透压。同时还需加10%～20%人或马血清。可在液体培养基中加入少量琼脂和明胶，制成固体培养基。细菌L型生长繁殖较原菌缓慢，一般培养2～7天后在软琼脂平板上形成中间较厚、四周较薄的荷包蛋样细小菌落，也有的形成颗粒状或丝状菌落（图1-8）。L型在液体培养基中生长后呈较疏松的絮状颗粒，沉于管底，培养液则澄清。去除诱发因素后，有些L型可回复为原细菌，有些则不能回复，其决定因素为L型是否含有残存的肽聚糖作为自身再合成的引物。

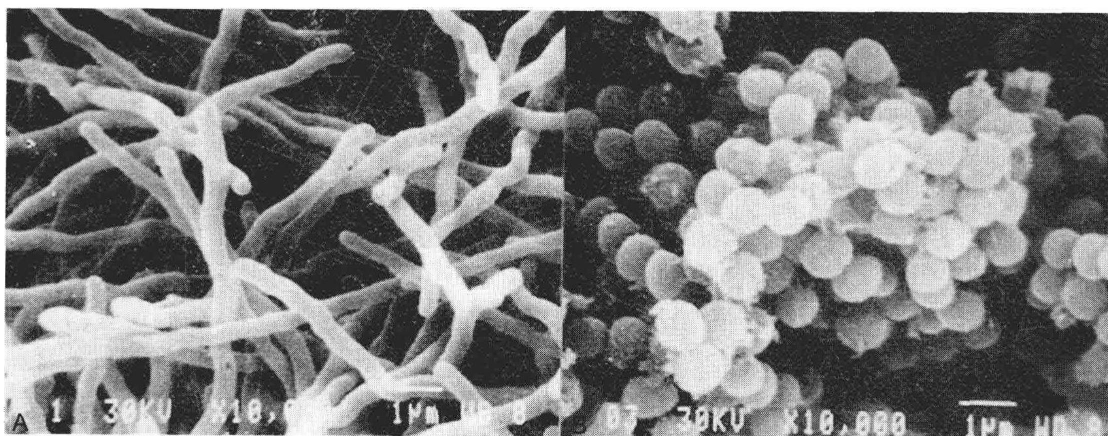


图1-7　葡萄球菌L型

A.临床标本分出的丝状L型菌落 扫描电镜×10000；B.丝状L型菌落回复后 扫描电镜×10000

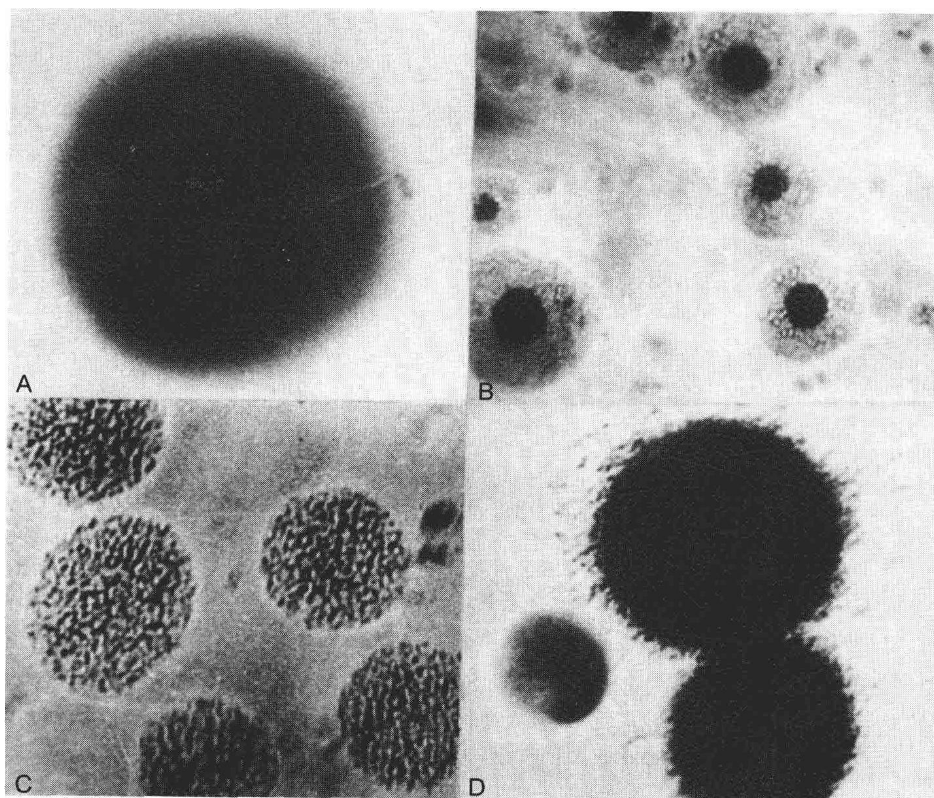


图1-8　细菌L型菌落类型

A.原细菌型菌落；B.荷包蛋样L型菌落；C.颗粒型L型菌落；D.丝状型L型菌落　×40

某些L型仍有一定的致病力，通常引起慢性感染，如尿路感染、骨髓炎、心内膜炎等，并常在作用于细胞壁的抗菌药物（β-内酰胺类抗生素等）治疗过程中发生。临床上遇有症状反复迁延不愈，而标本常规细菌培养阴性者，应考虑细菌L型感染的可能性，宜作L型的专门分离培养，并更换抗菌药物。

细胞膜 细胞膜（cell membrane）或称胞质膜（cytoplasmic membrane），位于细胞壁内侧，紧包着细胞质，也常称为内膜（inner membrane）。厚约7.5nm，柔韧致密，富有弹性，占细胞干重的10%～30%。细菌细胞膜的结构与真核细胞者基本相同，由磷脂和多种蛋白质组成，但不含胆固醇。

细胞膜是细菌赖以生存的重要结构之一，其主要功能：①物质选择性渗透和转运及废物的排出；②电子传递和氧化磷酸化，参与需氧菌的呼吸和能量代谢；③细菌合成的蛋白质和胞外水解酶的分泌；④含有多种酶的载体，参与DNA、肽聚糖、鞭毛、荚膜等生物合成；⑤含有多种受体和某些蛋白质，参与细菌的趋化作用和感应传导系统。

细胞膜在细菌重要的生命活动中发挥作用，与其含有丰富的蛋白质有关，细胞膜具有200余种蛋白质，约占其总量的70%，下述为近年来研究较为深入的重要蛋白质。

1. 青霉素结合蛋白 细菌细胞膜上的一组蛋白质，是参与细胞壁肽聚糖合成的酶类（转肽酶或转糖基酶），也是青霉素作用的主要靶位，称其为青霉素结合蛋白（penicillin-binding protein，PBP）。青霉素能与细菌竞争合成肽聚糖过程中所需的转肽酶，抑制四肽侧链与五肽交联桥或DAP之间的连接，细菌形成脆弱的肽聚糖，在一般渗透压环境中可导致细菌死亡。

2. 蛋白分泌系统 细菌合成的蛋白质，G^+菌直接将其分泌到胞外，G^-菌则由蛋白分泌系统（secretion system）将其分泌到胞外。G^-菌有5型（Ⅰ～Ⅴ）分泌系统，完成合成蛋白质的分泌过程，由多种细胞膜蛋白、外膜蛋白和辅助蛋白（ATPase、信号肽酶或分子伴侣等）组成（图1-9）。

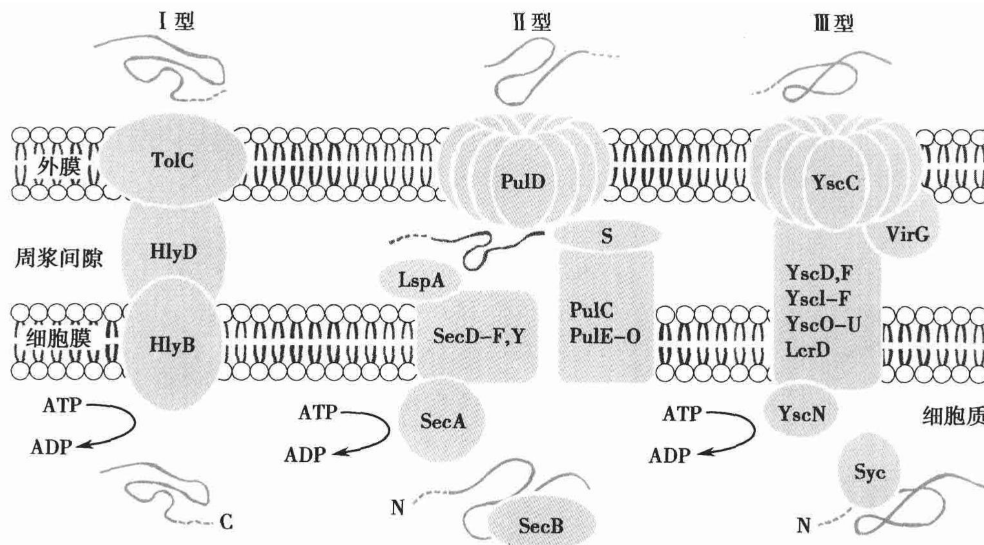


图1-9 革兰阴性菌Ⅰ型、Ⅱ型、Ⅲ型分泌系统模式图

Ⅰ型分泌系统，以大肠埃希菌α-溶血素为例，由细胞膜ATPase（Hly B）、外膜蛋白（Tol C）和膜融合蛋白（Hly D）形成一个分泌通道。毒素Hly A通过Hly B与ATP结合获得能量，一步完成其分泌。Ⅱ型分泌系统由细胞膜蛋白SecD～F、SecY、ATPase（SecA）、伴侣蛋白SecB和信号肽酶LspA组成的Sec途径和外膜多聚蛋白复合体（PulD）组成。带有N端信号肽的前体蛋白与SecB结合后依赖Sec途径先穿过内膜，将信号肽切除后释放出成熟蛋白，再经PulD跨越外膜完成分泌过程。Ⅱ型分泌系统是G^-菌分泌胞外降解酶的主要途径。Ⅲ型分泌途径为接触依赖系统（contact-dependent system），是细菌分泌致病性蛋白的主要途径，由20余种蛋白质组成。耶尔森菌的Ⅲ型分泌系统

（Ysc）由细胞膜蛋白、ATPase（Ysc N）、伴侣蛋白（Syc）和外膜蛋白（YscC）组成。一旦细菌与宿主细胞接触，Ⅲ型分泌系统被激活，毒素蛋白被直接注入宿主细胞内。Ⅳ型途径分泌多肽毒素或蛋白-DNA复合物。它与Ⅰ型和Ⅲ型系统相似，也是一步完成。但Ⅳ型分泌系统将分泌蛋白直接运送到另一个菌细胞或真核细胞内。Ⅴ型分泌系统与Ⅱ型相似，分泌蛋白穿越细胞膜和外膜是分步进行。但Ⅴ型系统分泌蛋白质跨越外膜时是经过其自身C端序列形成的外膜通道（cylinder），故称为自身转运（autotransport）。淋病奈瑟菌的IgA蛋白酶和幽门螺杆菌的空泡毒素经Ⅴ型系统分泌。

3. 双组分信号传导系统　细菌能够生存就必须适应各种环境的变化，具有感应外界环境信号的能力。细菌感应后，对环境信号作出反应的调控系统称为双组分信号传导系统（two-component signal transduction）。该系统由感应蛋白（sensor protein），又称组氨酸蛋白激酶，和反应调控蛋白（response regulator protein）组成，前者为跨膜蛋白，后者为胞质蛋白（图1-10）。双组分系统的作用机制为当外界信号作用于感应蛋白的膜外配体结合区时，激活该蛋白的ATP结合部位，水解ATP为ADP，并将磷酸基团转移到组氨酸位点发生自身磷酸化。然后，这一磷酸化基团在细胞内部传递到反应调控蛋白，后者是DNA结合蛋白，产生调控反应。此后，为了完成调控回路，必须有终止信号，从反应调控蛋白上去除磷酸基团，这一反应可以涉及另一个磷酸化酶，也可由感应蛋白自身执行。

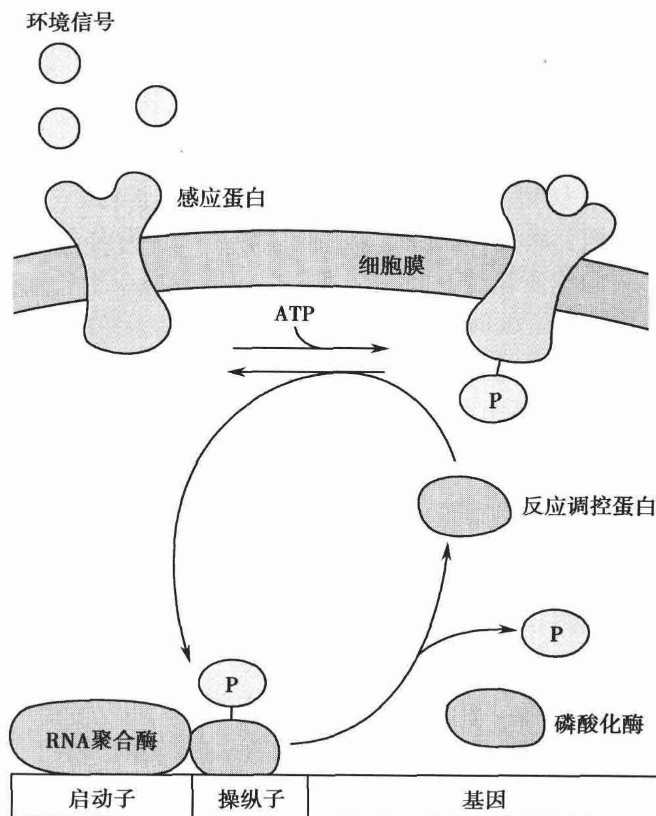


图1-10　双组分信号传导系统基因表达调控模式图

双组分信号传导系统广泛存在于革兰阳性菌和革兰阴性菌中，形式多样，它不仅参与细菌的基本生命活动，而且与病原菌的毒力和致病性密切相关。此外，由细菌自身产生的信号分子，来调节细菌群体密度的双组分信号传导系统称为群体感应或密度感应（quorum sensing，QS）系统，参与细菌多种生理活动，尤其是生物被膜的形成。

细胞质　细胞膜包裹的溶胶状物质为细胞质（cytoplasm）或称原生质（protoplasm），由水、蛋白质、脂类、核酸及少量糖和无机盐组成。其中的蛋白质，具有类似于真核细胞肌动蛋白的作用，起到细胞骨架蛋白（cytoskeletal proteins）的功能，决定着菌细胞的形状，调节细胞的分裂和染色体的分离。此外，细胞质中还含有许多下述重要结构。

1. 核糖体（ribosome）　核糖体是细菌合成蛋白质的场所，游离存在于细胞质中，每个细菌体内可达数万个。细菌核糖体沉降系数为70S，由50S和30S两个亚基组成，以大肠埃希菌为例，其化学组成66%是RNA（包括23S、16S和5S rRNA），34%为蛋白质。核糖体常与正在转录的mRNA相连呈"串珠"状，称多聚核糖体（polysome），使转录和转译耦联在一起。在生长活跃的细菌体内，几乎所有的核糖体都以多聚核糖体的形式存在。

2. 质粒（plasmid）　质粒是染色体外的遗传物质，存在于细胞质中。为闭合环状的双链DNA，带有遗传信息，控制细菌某些特定的遗传性状。质粒不是细菌生长所必不可少的，失去质粒的细菌仍能正常存活。质粒除决定该菌自身的某种性状外，还可通过接合或转导作用等将有关性状传递给

另一细菌。质粒编码的细菌性状有菌毛、细菌素、毒素和耐药性的产生等。

3. 中介体（mesosome） 中介体是部分细胞膜内陷、折叠、卷曲形成的囊状物，多见于革兰阳性细菌（图1-11）。中介体常位于菌体侧面或靠近中部，可有一个或多个。中介体一端连在细胞膜上，另一端与核质相连，细胞分裂时中介体亦一分为二，各携一套核质进入子代细胞。中介体的形成，有效地扩大了细胞膜面积，相应地增加了酶的含量和能量的产生，其功能类似于真核细胞的线粒体，故称为拟线粒体（chondroid）。

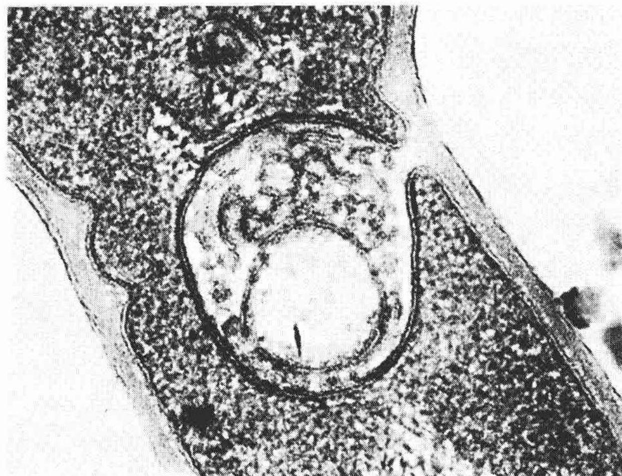


图1-11 白喉棒状杆菌的中介体
透射电镜 ×130000（谢念铭提供）

4. 胞质颗粒 细菌细胞质中含有多种颗粒，大多为贮藏的营养物质，包括糖原、淀粉等多糖、脂类、磷酸盐等。胞质颗粒又称为内含物（inclusion），不是细菌的恒定结构，不同菌有不同的胞质颗粒，同一个细菌在不同环境或生长期亦可不同。当营养充足时，胞质颗粒较多；养料和能源短缺时，动用贮备，颗粒减少甚至消失。胞质颗粒中有一种主要成分是RNA和多偏磷酸盐（polymetaphosphate）的颗粒，其嗜碱性强，用亚甲蓝染色时着色较深呈紫色，称为异染颗粒（metachromatic granule）或迂回体（volutin）。异染颗粒常见于白喉棒状杆菌，位于菌体两端，故又称极体（polar body），有助于细菌鉴定。

核质 细菌是原核细胞，不具有成形的核。细菌的遗传物质称为核质（nuclear material）或拟核（nucleoid），集中于细胞质的某一区域，多在菌体中央，无核膜、核仁和有丝分裂器；因其功能与真核细胞的染色体相似，故习惯上亦称之为细菌的染色体（chromosome）。

细菌核质为单倍体，细胞分裂时可有完全相同的多拷贝。核质由单一密闭环状DNA分子反复回旋卷曲盘绕组成松散网状结构，其化学组成DNA占80%以上，其余为RNA（以RNA多聚酶形式）和蛋白质。其中与DNA结合，参与DNA折叠的蛋白质称为组蛋白样蛋白质（histone-like protein）；DNA还与复制、转录等有关的蛋白结合在一起，但不形成染色体结构。用Feulgen法染色光学显微镜下观察，核质形态多呈球形、棒形和哑铃形。电镜观察，核质的中央有一电子稠密的骨架，由RNA和蛋白质组成，其周围附着30～50个负超螺旋的DNA环，环的长度约为20nm。非致病性大肠埃希菌k-12标准株MG1655，大小为4639221bp，长度为1333μm，具有4289个编码蛋白质的序列，目前约38%基因的生物学功能尚不清楚。

细菌的染色体与真核细胞者相比，有两个显著的不同：一是前者的DNA量要小得多，其序列的组织性也就简单得多；二是除了RNA基因通常是多拷贝外，细菌绝大多数编码蛋白质的基因保持单拷贝形式，很少有重复序列。

（二）细菌的特殊结构

荚膜 某些细菌在其细胞壁外包绕一层黏液性物质，为多糖或蛋白质的多聚体，用理化方法去除后并不影响菌细胞的生命活动。凡黏液性物质牢固地与细胞壁结合，厚度≥0.2μm，边界明显者称为荚膜（capsule）或大荚膜（macrocapsule）（图1-12）。厚度<0.2μm

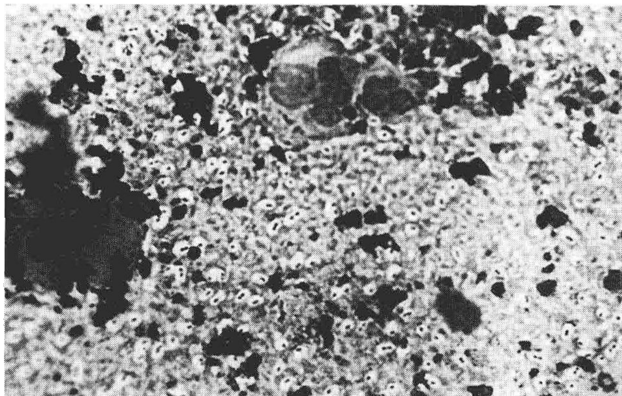


图1-12 肺炎链球菌荚膜
荚膜染色 ×1000（杨致邦 李华平提供）

者称为微荚膜（microcapsule），伤寒沙门菌的Vi抗原，以及大肠埃希菌的K抗原等均属之。若黏液性物质疏松地附着于菌细胞表面，边界不明显且易被洗脱者称为黏液层（slime layer）。介于荚膜和黏液层之间的结构称为糖萼（glycocalyx），由多糖或糖蛋白组成，是从菌体伸出的疏松纤维网状结构。

1. 荚膜的化学组成　大多数细菌的荚膜是多糖，但炭疽芽胞杆菌、鼠疫耶尔森菌等少数菌的荚膜为多肽。荚膜多糖含水量达95%以上，与菌细胞表面的磷脂或脂质A共价结合。多糖分子组成和构型的多样化使其结构极为复杂，成为血清学分型的基础。例如肺炎链球菌的荚膜多糖物质的抗原至少可分成85个血清型。荚膜与同型抗血清结合发生反应后即逐渐增大，出现荚膜肿胀反应，可借此确定细菌的血清型。

荚膜的形成需要能量，与环境条件有密切关系。一般在动物体内或含有血清或糖的培养基中容易形成荚膜，在普通培养基上或连续传代则易消失。有荚膜的细菌在固体培养基上形成黏液（M）型或光滑（S）型菌落，失去荚膜后其菌落变为粗糙（R）型。

荚膜对一般碱性染料亲和力低，不易着色，普通染色只能见到菌体周围有未着色的透明圈。如用墨汁作负染色，则荚膜显现更为清楚。用特殊染色法可将荚膜染成与菌体不同的颜色。

2. 荚膜的功能　荚膜和微荚膜具有相同的功能。

（1）抗吞噬作用：荚膜具有抵抗宿主吞噬细胞的作用，因而荚膜是病原菌的重要毒力因子。例如肺炎链球菌，有荚膜株数个菌就可使实验小鼠致死，无荚膜株则高达上亿个菌才能使小鼠死亡。

吞噬现象有两种类型，一为表面吞噬（surface phagocytosis），另一为调理素介导的吞噬（opsonin-mediated phagocytosis）。荚膜多糖具有亲水性且带负电荷，故能阻滞吞噬细胞的活性。由调理素介导的吞噬，其吞噬效率大大超过表面吞噬。荚膜在菌细胞表面的屏障作用，阻止补体组分C3b的沉积，并遮蔽了细菌激活补体旁路途径的表面结构，从而抵抗补体介导的杀伤作用。

（2）黏附作用：荚膜多糖可使细菌与特异的宿主组织结合，也参与细菌生物膜的形成，是引起感染的重要因素。变异链球菌（*Streptococcus mutans*）依靠荚膜将其固定在牙齿表面，利用口腔中的蔗糖产生大量的乳酸，积聚在附着部位，导致牙齿珐琅质的破坏，形成龋齿。荚膜菌株在住院患者的各种导管内黏附定居，是医院内感染发生的重要因素。

（3）抗有害物质的损伤作用：荚膜处于菌细胞的最外层，有保护菌体避免和减少受溶菌酶、补体、抗菌抗体、抗菌药物等有害物质的损伤作用。

鞭毛　许多细菌，包括所有的弧菌和螺菌，约半数的杆菌和个别球菌，在菌体上附有细长并呈波状弯曲的丝状物，少仅1～2根，多者达数百。这些丝状物称为鞭毛（flagellum），是细菌的运动器官。鞭毛长5～20μm，直径12～30nm，需用电子显微镜观察，或经特殊染色法使鞭毛增粗后才能在普通光学显微镜下看到（图1-13）。

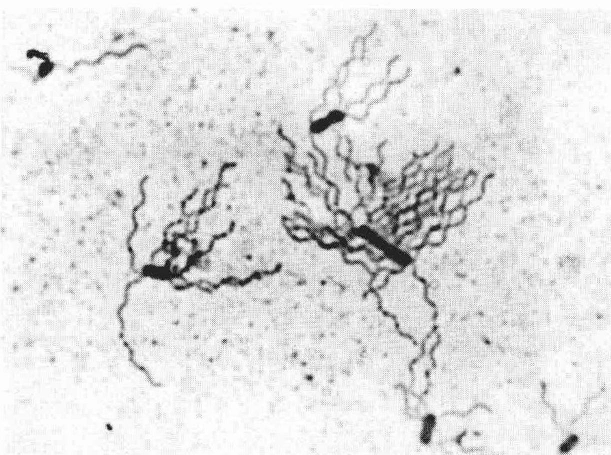


图1-13　伤寒沙门菌的鞭毛
鞭毛染色　×1824

根据鞭毛的数量和部位，可将鞭毛菌分成4类（图1-14）：①单毛菌（monotrichate）：只有一根鞭毛，位于菌体一端，如霍乱弧菌；②双毛菌（amphitrichate）：菌体两端各有一根鞭毛，如空肠弯曲菌；③丛毛菌（lophotrichate）：菌体一端或两端有一丛鞭毛，如铜绿假单胞菌；④周毛菌（peritrichate）：菌体周身遍布许多鞭毛，如伤寒沙门菌。

1. 鞭毛的结构　鞭毛自细胞膜长出，游离于菌细胞外，由基础小体、钩状体和丝状体三个部分组成（图1-15）。

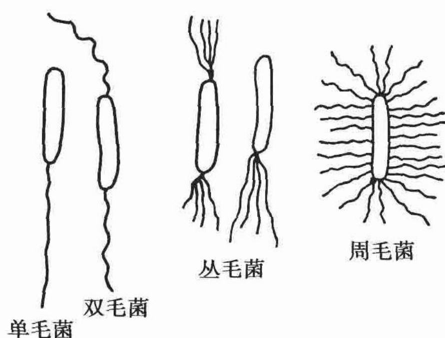


图1-14 细菌鞭毛的各种类型

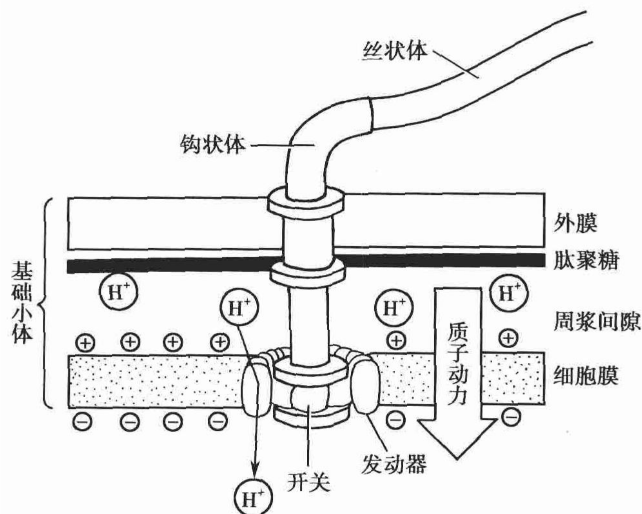


图1-15 大肠埃希菌鞭毛结构模式图

（1）基础小体（basal body）：位于鞭毛根部，嵌在细胞壁和细胞膜中。革兰阴性菌鞭毛的基础小体由一根圆柱、两对同心环和输出装置组成。其中，一对是M（membrane）环和S（supra-membrane）环，附着在细胞膜上；另一对是P（peptidoglycan）环和L（lipopolysaccharide）环，附着在细胞壁的肽聚糖和脂多糖上。基础小体的基底部是鞭毛的输出装置（export apparatus），位于细胞膜内面的细胞质内。基底部圆柱体周围的发动器（motor）为鞭毛运动提供能量，近旁的开关（switch）决定鞭毛转动的方向。革兰阳性菌的细胞壁无外膜，其鞭毛只有M、S一对同心环。

（2）钩状体（hook）：位于鞭毛伸出菌体之处，呈约90° 的钩状弯曲。鞭毛由此转弯向外伸出，成为丝状体。

（3）丝状体（filament）：呈纤丝状，伸出于菌体外，由鞭毛蛋白（flagellin）紧密排列并缠绕而成的中空管状结构。丝状体的作用犹如船舶或飞机的螺旋桨推进器。鞭毛蛋白是一种弹性纤维蛋白，其氨基酸组成与骨骼肌中的肌动蛋白相似，可能与鞭毛的运动有关。

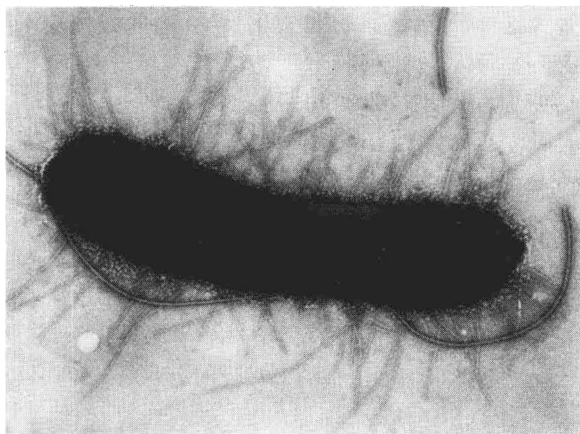
鞭毛是从尖端生长，在菌体内形成的鞭毛蛋白分子不断地添加到鞭毛的末端。若用机械方法去除鞭毛，新的鞭毛很快合成，3～6分钟内恢复运动能力。各菌种的鞭毛蛋白结构不同，具有高度的抗原性，称为鞭毛（H）抗原。

2. 鞭毛的功能　具有鞭毛的细菌在液体环境中能自由游动，运动迅速，如单鞭毛的霍乱弧菌每秒移动可达55μm，周毛菌移动较慢，每秒移动25～30μm。细菌的运动有化学趋向性，常向营养物质处前进，而逃离有害物质。细菌运动的方向性，受环境因素的影响极大。菌细胞膜上有众多的特异信号受体（signal receptor），能接受不同的理化和生物学刺激而作出相应反应。例如大肠埃希菌细胞膜上的特异性糖结合受体，既能察觉化学趋化信号，也参与该物质的运输。如果遇到吸引性刺激时，细菌就会暂时性抑制发动器的顺时针方向转动，使菌体向吸引物移动；反之，遇到有害物质时，也会增强发动器的顺时针方向转动，于是细菌背离有害物运动以保存自己。

有些细菌的鞭毛与致病性有关。如霍乱弧菌、空肠弯曲菌等通过活泼的鞭毛运动穿越小肠黏膜表面覆盖的黏液层，使菌体黏附于肠黏膜上皮细胞，产生毒性物质导致病变的发生。

根据鞭毛菌的动力（motility）和鞭毛的抗原性，可用以鉴定细菌和进行细菌分类。

菌毛　许多革兰阴性菌和少数革兰阳性菌菌体表面存在着一种比鞭毛更细、更短而直硬的丝状物，称为菌毛（pilus或fimbriae）。菌毛由结构蛋白亚单位菌毛蛋白（pilin）组成，呈螺旋状排列成圆柱体，位于菌毛的尖端决定与受体特异性结合的蛋白称为黏附素（adhesin），新形成的菌毛蛋白分子插入菌毛的基底部。菌毛蛋白具有抗原性，其编码基因位于细菌的染色体或质粒上。菌毛在普通光学显微镜下看不到，必须用电子显微镜观察（图1-16）。


图1-16 大肠埃希菌的菌毛
透射电镜 ×42500

根据机能不同，菌毛可分为普通菌毛和性菌毛两类。

1. 普通菌毛（ordinary pilus） 长0.2～2μm，直径3～8nm，遍布菌细胞表面。这类菌毛是细菌的黏附结构，能与宿主细胞表面的特异性受体结合，是细菌感染的第一步。因此，菌毛和细菌的致病性密切相关。菌毛的受体常为糖蛋白或糖脂，与菌毛结合的特异性决定了宿主感染的易感部位。同样，如果红细胞表面具有菌毛受体的相似成分，不同的菌毛就会引起不同类型的红细胞凝集，称此为血凝（hemagglutination， HA），借此可以鉴定菌毛。例如大肠埃希菌的Ⅰ型菌毛（type Ⅰ或common pili），黏附于肠道和下尿道黏膜上皮细胞表面；能凝集豚鼠红细胞，可被D-甘露糖所抑制，称为甘露糖敏感性血凝（MSHA）。致肾盂肾炎大肠埃希菌（pyelonephritic *E.coli* 或uropathogenic *E.coli*， UPEC）的P菌毛（pyelonephritis-associated pili， P pili）常黏附于肾脏的集合管和肾盏；能凝集P血型阳性红细胞，且不被甘露糖所抑制，称为甘露糖抗性血凝（MRHA），是上行性尿路感染的重要致病菌。肠产毒性大肠埃希菌（enterotoxigenic *E.coli*，ETEC）的定植因子是一种特殊类型的菌毛（CFA/Ⅰ，CFA/Ⅱ），黏附于小肠黏膜细胞，编码定植因子和肠毒素的基因均位于可接合传递质粒上，是该菌重要的毒力因子。霍乱弧菌、肠致病性大肠埃希菌（EPEC）和淋病奈瑟菌的菌毛都属于Ⅳ型菌毛，在所致的肠道或泌尿生殖道感染中起到关键作用。有菌毛菌株的黏附可抵抗肠蠕动或尿液的冲洗作用而有利于定居，一旦丧失菌毛，其致病力亦随之消失。

2. 性菌毛（sex pilus） 仅见于少数革兰阴性菌。数量少，一个菌只有1～4根。比普通菌毛长而粗，中空呈管状。性菌毛由一种F质粒（也称致育因子fertility factor， F factor）编码，故性菌毛又称F菌毛，参与F质粒的接合传递。此外，性菌毛也是某些噬菌体吸附于菌细胞的受体。

芽胞 某些细菌在一定的环境条件下，在菌体内部形成一个圆形或卵圆形小体，是细菌的休眠形式，称为内芽胞（endospore），简称芽胞（spore），以别于真菌在菌体外部形成的孢子。产生芽胞的细菌都是革兰阳性菌，重要的有芽胞杆菌属（炭疽芽胞杆菌等）和梭菌属（破伤风梭菌等）。

1. 芽胞的形成与发芽 细菌形成芽胞的能力是由菌体内的芽胞基因决定的。芽胞一般只是在动物体外才能形成，其形成条件因菌种而异。如炭疽芽胞杆菌在有氧下形成，而破伤风梭菌则相反。营养缺乏尤其是C、 N、 P元素不足时，细菌生长繁殖减速、启动芽胞形成基因。但亦有例外，苏云金芽胞杆菌形成芽胞则要求适宜的生长条件。

芽胞带有完整的核质、酶系统和合成菌体组分的结构，能保存细菌的全部生命必需物质。芽胞形成后，菌体即成为空壳，有些芽胞可从菌体脱落游离。

芽胞折光性强，壁厚，不易着色。染色时需经媒染、加热等处理。芽胞的大小、形状、位置等随菌种而异，有重要的鉴别价值（图1-17）。例如炭疽芽胞杆菌的芽胞为卵圆形、比菌体小，位于菌体中央；破伤风梭菌芽胞呈圆形，比菌体大，位于顶端，状如鼓槌（图1-18）；肉毒梭菌芽胞亦比菌体大，位于次极端。


图1-17 细菌芽胞的形状、大小和位置

芽胞形成在形态学上可分Ⅰ～Ⅶ 7个期，全程6～8天。始于对数生长期末，菌细胞膜进行性地内陷性生长，逐渐形成双层膜结构，包被核质成为芽胞的核心。细胞膜又能合成特殊物质，在内膜和外膜间形成细胞壁和皮质。在外膜外围再形成芽胞壳和芽胞外衣。

成熟的芽胞具有多层膜结构（图1-19）。芽胞核心（core）是芽胞的原生质体，含有细菌原有的核质和核糖体、酶类等主要生命基质。核心的外层依次为内膜、芽胞壁、皮质、外膜、芽胞壳和芽胞外衣，将其层层包裹，成为坚实的球体。内膜和外膜由原来的细胞膜形成。芽胞壁（spore wall）含肽聚糖，发芽后成为细菌的细胞壁。皮质（cortex）是芽胞包膜中最厚的一层，由一种特殊的肽聚糖组成。芽胞壳（coat）是一种类似角蛋白的疏水性蛋白质，致密无通透性，能抗化学药物进入，并增强对紫外线照射的抵抗力。有些细菌芽胞还有一层疏松的芽胞外衣（exosporium），含有脂蛋白和糖类。



图1-18 破伤风梭菌芽胞
透射电镜 ×21000（谢念铭提供）

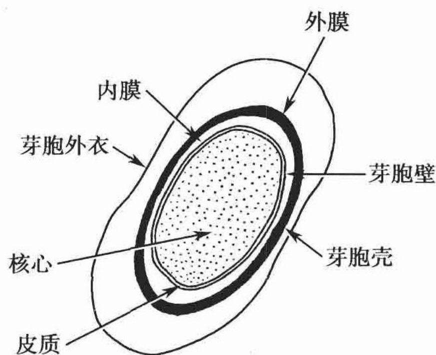


图1-19 细菌芽胞的结构

芽胞形成后，若由于机械力、热、pH改变等刺激作用下，破坏其芽胞壳，并供给水分和营养，芽胞可发芽，形成新的菌体。

一个细菌只形成一个芽胞，一个芽胞发芽也只生成一个菌体，细菌数量并未增加，因而芽胞不是细菌的繁殖方式。与芽胞相比，未形成芽胞而具有繁殖能力的菌体可称为繁殖体（vegetative form）。

细菌的芽胞发芽（germination）成繁殖体的过程，可分为活化（activation）、启动（initiation）和长出（outgrowth）三个连续阶段。由于代谢活性和呼吸增强，生物合成加速，其顺序为RNA、蛋白质、脂质，最后是DNA。继而芽胞核心体积增大、皮质膨松、芽胞壳破裂，芽管长出并逐渐长大、发育成新的繁殖体。

2. 芽胞的功能　细菌的芽胞对热力、干燥、辐射、化学消毒剂等理化因素均有强大的抵抗力。一般细菌繁殖体在80℃水中迅速死亡，而有的细菌芽胞可耐100℃沸水数小时。被炭疽芽胞杆菌芽胞污染的草原，传染性可保持20～30年。

被芽胞污染的用具、敷料、手术器械等，用一般方法不易将其杀死，杀灭芽胞最可靠的方法是高压蒸气灭菌。当进行消毒灭菌时，应以芽胞是否被杀死作为判断灭菌效果的指标。

三、细菌的理化性状

（一）细菌的化学组成

细菌和其他生物细胞相似，含有多种化学成分，包括水、无机盐、蛋白质、糖类、脂质和核酸等。水分是菌细胞重要的组成部分，占细胞总重量的75%～90%。菌细胞去除水分后，主要包括碳、氢、氮、氧、磷和硫等。还有少数的无机离子，如钾、钠、铁、镁、钙、氯等；用以构成菌细胞的各种成分及维持酶的活性和跨膜化学梯度。细菌尚含有一些原核细胞型微生物所特有的化学组成，如肽聚糖、胞壁酸、磷壁酸、D型氨基酸、二氨基庚二酸、吡啶二羧酸等。这些物质在真核细胞中还未发现。

（二）细菌的物理性状

光学性质　细菌为半透明体。当光线照射至细菌，部分被吸收，部分被折射，故细菌悬液呈混浊状态。菌数越多浊度越大，使用比浊法或分光光度计可以粗略地估计细菌的数量。由于细菌具有这种光学性质，可用相差显微镜观察其形态和结构。

表面积　细菌体积微小，相对表面积大，有利于同外界进行物质交换。这是因为体积是半径立方的函数（$V=\frac{4}{3}\pi r^3$），而面积是半径平方的函数（$A=4\pi r^2$）。表面积和体积的比率可以表示成3/r。因此，细胞半径越小，表面积与体积的比率就会大于半径大的细胞，故小细胞比大细胞会更有效地与外界进行交换。所以，细胞代谢和生长速率与细胞大小成反比，细菌的体积小，代谢旺盛，繁殖迅速。

带电现象　细菌固体成分的50%～80%是蛋白质，蛋白质由兼性离子氨基酸组成。在一定pH值溶液内，氨基酸电离的阳离子和阴离子数相等，此时pH值即称为细菌的等电点（pI）。革兰阳性菌pI较低，在pH2～3；革兰阴性菌pI较高，在pH4～5。故在生理条件（中性或弱碱性）下，溶液的pH比细菌等电点高，氨基的电离受到抑制，羧基电离，所以细菌均带负电荷。尤以前者所带负电荷更多。细菌的带电现象与细菌的染色反应、凝集反应、抑菌和杀菌作用等都有密切关系。

半透性　细菌的细胞壁和细胞膜都有半透性，允许水及部分小分子物质通过，有利于吸收营养和排出代谢产物。

渗透压　细菌体内含有高浓度的营养物质和无机盐，一般革兰阳性菌的渗透压高达20～25个大气压，革兰阴性菌为5～6个大气压。细菌所处一般环境相对低渗，但因有坚韧细胞壁的保护而不致崩裂。若处于比菌内渗透压更高的环境中，菌体内水分逸出，胞质浓缩，细菌就不能生长繁殖。

第二节　细菌的生长繁殖与代谢

一、细菌的营养类型

各类细菌的酶系统不同，代谢活性各异，因而对营养物质的需要也不同。根据细菌所利用的能源和碳源的不同，将细菌分为两大营养类型。

自养菌（autotroph）　该类菌以简单的无机物为原料，如利用CO_2、CO_3^{2-}作为碳源，利用N_2、NH_3、NO_2^-、NO_3^-等作为氮源，合成菌体成分。这类细菌所需能量来自无机物的氧化称为化能自养菌（chemotroph），或通过光合作用获得能量称为光能自养菌（phototroph）。

异养菌（heterotroph）　该类菌必须以多种有机物为原料，如蛋白质、糖类等，才能合成菌体成分并获得能量。异养菌包括腐生菌（saprophyte）和寄生菌（parasite）。腐生菌以动植物尸体、腐败食物等作为营养物；寄生菌寄生于活体内，从宿主的有机物获得营养。所有的病原菌都是异养菌，大部分属寄生菌。

二、细菌的营养物质

对细菌进行人工培养时，必须供给其生长所必需的各种成分，一般包括水、碳源、氮源、无机盐和生长因子等。

水　细菌所需营养物质必须先溶于水，营养的吸收与代谢均需有水才能进行。

碳源　各种碳的无机或有机物都能被细菌吸收和利用，合成菌体组分和作为获得能量的主要来源。病原菌主要从糖类获得碳。

氮源　细菌对氮源的需要量仅次于碳源，其主要功能是作为菌体成分的原料。很多细菌可以利用有机氮化物，病原微生物主要从氨基酸、蛋白胨等有机氮化物中获得氮。少数病原菌如克雷伯菌亦可利用硝酸盐甚至氮气，但利用率较低。

无机盐　细菌需要各种无机盐以提供细菌生长的各种元素，其需要浓度大约50mg/L的元素为常用元素，其需要浓度在0.1～1mg/L元素为微量元素。前者如磷、硫、钾、钠、镁、钙、铁

等；后者如钴、锌、锰、铜、钼等。各类无机盐的功用如下：①构成有机化合物，成为菌体的成分；②作为酶的组成部分，维持酶的活性；③参与能量的储存和转运；④调节菌体内外的渗透压；⑤某些元素与细菌的生长繁殖和致病作用密切相关。例如白喉棒状杆菌在含铁0.14 mg/L的培养基中产毒素量最高，铁的浓度达到0.6mg/L时则完全不产毒。一些微量元素并非所有细菌都需要，不同菌只需其中的一种或数种。

生长因子　许多细菌的生长还需一些自身不能合成的生长因子（growth factor），通常为有机化合物，包括维生素、某些氨基酸、嘌呤、嘧啶等。少数细菌还需特殊的生长因子，如流感嗜血杆菌需要X、V两种因子，X因子是高铁血红素，V因子是辅酶Ⅰ或辅酶Ⅱ，两者为细菌呼吸所必需。

三、细菌摄取营养物质的机制

营养物质进入菌体内有如下四种方式。各种细菌转运营养物质的方式不同，即使对同一种物质，不同细菌的摄取方式也不一样。

被动扩散　指营养物质从高浓度向低浓度的一侧扩散，其驱动力是浓度梯度，不需要提供能量。不需要任何细菌组分的帮助，营养物就可以进入细胞质内的过程称为简单扩散。由菌细胞的通道蛋白形成选择性通道，对特殊营养物（如甘油）进行转运，称为易化扩散（facilitated diffusion）。

主动转运　是细菌吸收营养物质的主要方式，其特点是营养物从低浓度向高浓度一侧转运，并需要提供能量。根据能量来源不同，有以下两种方式：

1. ABC转运（ABC transport）　G^-菌的特异性结合蛋白位于周浆间隙，G^+菌的特异性结合蛋白位于细胞的外表面。营养物与特异性结合蛋白形成复合物后，引起后者构型的改变，继而将营养物转送给细胞膜上的ATP结合型载体（ATP-binding cassette-type carrier），导致ATP水解，提供的能量打开膜孔，使营养物进入细胞内。

2. 离子耦联转运（ion-coupled transport）　该系统利用膜内外两侧质子或离子浓度差产生的质子动力（proton motive force）或钠动力（sodium motive force）作为驱使营养物越膜转移的能量。转运营养物的载体是电化学离子梯度透性酶，这种酶是一种能够进行可逆性氧化还原反应的疏水性膜蛋白，即在氧化状态与营养物结合，而在还原状态时其构象发生变化，使营养物释放进入胞质内。这种方式在需氧菌极为常见。

基团转移　严格地讲，基团转移（group translocation）不是主动转运，它不涉及营养物的浓度梯度，而是利用能量将物质转运与代谢相结合。如大肠埃希菌摄入葡萄糖需要的磷酸转移酶系统，是由细胞膜上的载体蛋白首先在胞质内从磷酸烯醇丙酮酸获得磷酸基团后，在细胞膜的外表面与葡萄糖相结合，将其送入胞质内后释放出6-磷酸葡萄糖。经过磷酸化的葡萄糖在胞内累积，不能再逸出菌体。该系统的能量供体是磷酸烯醇丙酮酸。

特异性转运（special transport）　几乎所有的细菌生长都需要铁。人体内绝大部分铁结合在转铁蛋白和乳铁蛋白中。细菌分泌载铁体（siderophores），与铁螯合使其以可溶性复合物的形式进入菌体内。载铁体是异羟肟酸（$—CONH_2OH$）的衍生物，与Fe^{3+}螯合能力极强，形成铁-异羟肟酸复合物，通过贯穿细菌外膜、周浆间隙和内膜的蛋白质协同作用，使铁进入菌细胞内并释放出来。载铁体与细菌的致病性有关。也有的病原菌以特异性受体与宿主的转铁蛋白或乳铁蛋白结合，依赖于提供的能量将铁转运至细胞内。

四、细菌生长繁殖的条件

营养物质、能量和适宜的环境是细菌生长繁殖的必备条件。

营养物质　充足的营养物质可以为细菌的新陈代谢及生长繁殖提供必要的原料和充足的能量。

氢离子浓度（pH）　每种细菌都有一个可生长的pH范围，以及最适生长pH。多数病原菌最适pH为7.2～7.6，在宿主体内极易生存。大多数嗜中性细菌生长的pH范围是6.0～8.0，嗜酸性细

菌最适生长pH可低至3.0，嗜碱性细菌最适生长pH可高达10.5。个别细菌如霍乱弧菌在pH8.4～9.2生长最好，结核分枝杆菌生长的最适pH为6.5～6.8。细菌依靠细胞膜上的质子转运系统调节菌体内的pH，使其保持稳定，包括ATP驱使的质子泵，Na^+/H^+和K^+/H^+交换系统。

温度　各类细菌对温度的要求不一。借此分为嗜冷菌（psychrophile），其最适生长为10～20℃；嗜温菌（mesophile），最适生长20～40℃；嗜热菌（thermophile），生长范围25～95℃。病原菌在长期进化过程中适应人体环境，均为嗜温菌，最适生长温度为人的体温，即37℃。当细菌突然暴露于高出适宜生长温度的环境时，可暂时合成热休克蛋白（heat-shock proteins，Hsp）。该蛋白对热有抵抗性，可稳定菌体内热敏感的蛋白质。相反，细菌突然暴露于低温环境也会出现冷休克（cold shock），例如大肠埃希菌从37℃突然冷却到5℃，将有90%细胞被杀伤。因此常用甘油或二甲基亚砜保护其不受冻结和冷休克的影响。

气体　根据细菌代谢时对分子氧的需要与否，可以分为四类。

1. 专性需氧菌（obligate aerobe）　具有完善的呼吸酶系统，需要分子氧作为受氢体以完成需氧呼吸，仅能在有氧环境下生长，如结核分枝杆菌、霍乱弧菌。

2. 微需氧菌（microaerophilic bacterium）　在低氧压（5%～6%）生长最好，氧浓度＞10%对其有抑制作用，如空肠弯曲菌、幽门螺杆菌。

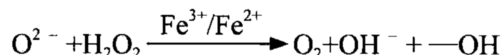
3. 兼性厌氧菌（facultative anaerobe）　兼有需氧呼吸和无氧发酵两种功能，不论在有氧或无氧环境中都能生长，但以有氧时生长较好。大多数病原菌属于此类。

4. 专性厌氧菌（obligate anaerobe）　缺乏完善的呼吸酶系统，利用氧以外的其他物质作为受氢体，只能在无氧环境中进行发酵。有游离氧存在时，不但不能利用分子氧，且还将受其毒害，甚至死亡，如破伤风梭菌、脆弱类杆菌。

专性厌氧菌在有氧环境中不能生长，可能由于下述原因：

（1）缺乏氧化还原电势（Eh）高的呼吸酶：各种物质均有其固有的Eh。在氧化还原过程中，Eh高的物质可氧化Eh低的物质，反之则不能。人组织的Eh约为150mV，普通培养基在有氧环境中Eh可达300mV左右，因此细菌必须具有Eh比它们更高的呼吸酶，如细胞色素和细胞色素氧化酶，才能氧化环境中的营养物质。专性厌氧菌缺乏这类高Eh呼吸酶，只能在120mV以下的Eh时生长，有氧时Eh高于此值，故不能生长。

（2）缺乏分解有毒氧基团的酶：细菌在有氧环境中代谢时，常产生具有强烈杀菌作用的超氧阴离子（O^{2-}）和过氧化氢（H_2O_2）。在有铁存在条件下，这两种物质还可产生对生物大分子有损害作用的羟基（—OH）。



$$O^{2-} + H_2O_2 \xrightarrow{Fe^{3+}/Fe^{2+}} O_2 + OH^- + —OH$$

需氧菌有超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）和触酶（catalase），前者将超氧阴离子还原成过氧化氢，后者将过氧化氢分解为水和分子氧。有的细菌不产生触酶，而是产生过氧化物酶（peroxidase），将H_2O_2还原成无毒的水分子。专性厌氧菌缺乏这三种酶，故在有氧时受到有毒氧基团的影响，就不能生长繁殖。

渗透压　一般培养基的盐浓度和渗透压对大多数细菌是安全的，少数细菌如嗜盐菌（halophilic bacterium）需要在高浓度（3%）的NaCl环境中生长良好。

五、细菌的生长繁殖

细菌个体的生长繁殖　细菌一般以简单的二分裂方式（binary fission）进行无性繁殖。在适宜条件下，多数细菌繁殖速度很快。细菌分裂数量倍增所需要的时间称为代时（generation time），多数细菌为20～30分钟。个别细菌繁殖速度较慢，如结核分枝杆菌的代时达18～20小时。

细菌群体的生长繁殖　由于细菌繁殖中营养物质的逐渐耗竭，有害代谢产物的逐渐积累，细菌

不可能始终保持高速度的无限繁殖。经过一段时间后，细菌繁殖速度渐减，死亡菌数增多，活菌增长率随之下降并趋于停滞。

将一定数量的细菌接种于适宜的液体培养基中，连续定时取样检查活菌数，可发现细菌在体外生长过程的规律性。以培养时间为横坐标，培养物中活菌数的对数为纵坐标，可绘制出一条生长曲线（growth curve）（图1-20）。

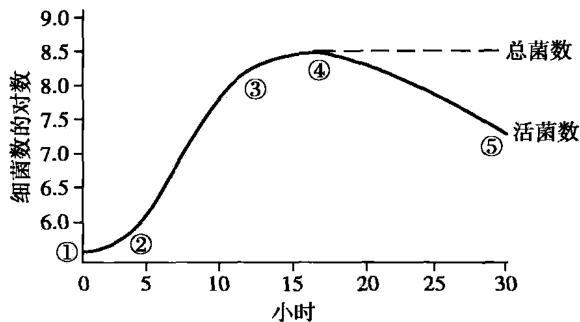


图1-20　大肠埃希菌的生长曲线

根据生长曲线，细菌的群体生长繁殖可分为四期：

1. 迟缓期（lag phase）　细菌进入新环境后的短暂适应阶段。该期菌体增大，代谢活跃，为细菌的分裂繁殖合成并积累充足的酶、辅酶和中间代谢产物；但分裂迟缓，繁殖极少。迟缓期长短不一，按菌种、接种菌的菌龄和菌量，以及营养物等不同而异，一般为1～4小时。如果把对数生长期培养物转种相同的培养基，并在相同条件下生长，则不会出现迟缓期，并立即开始对数生长。如果转种的是衰老的培养液（稳定期），即使细胞都是活的，接入相同的培养基也会出现延迟现象。

2. 对数期（logarithmic phase）　又称指数期（exponential phase）。细菌在该期生长迅速，活菌数以恒定的几何级数增长，生长曲线图上细菌数的对数呈直线上升，达到顶峰状态。此期细菌的形态、染色性、生理活性等都较典型，对外界环境因素的作用敏感。因此，研究细菌的生物学性状（形态染色、生化反应、药物敏感试验等）应选用该期的细菌。对数生长速度受环境条件（温度、培养基组成）及微生物自身遗传特征的影响，一般细菌对数期在培养后的8～18小时。

3. 稳定期（stationary phase）　由于培养基中营养物质消耗，有害代谢产物积聚，该期细菌繁殖速度渐减，死亡数逐渐增加，但仍有菌体生长，其数目没有净增加或净减少。此期细菌形态、染色性和生理性状常有改变。一些细菌的芽胞、外毒素和抗生素等代谢产物大多在稳定期产生。

4. 衰亡期（decline phase）　稳定期后细菌繁殖越来越慢，死亡数越来越多，并超过活菌数。该期细菌形态显著改变，出现衰退型或菌体自溶，难以辨认；生理代谢活动也趋于停滞。因此，陈旧培养的细菌难以鉴定。

细菌生长曲线只有在体外人工培养的条件下才能观察到。在自然界或人类、动物体内繁殖时，受多种环境因素和机体免疫因素的多方面影响，不可能出现在培养基中的那种典型的生长曲线模式。

细菌的生长曲线在研究工作和生产实践中都有指导意义。掌握细菌生长规律，可以人为地改变培养条件，调整细菌的生长繁殖阶段，更为有效地利用对人类有益的细菌。例如在培养过程中，不断地更新培养液和对需氧菌进行通气，使细菌长时间地处于生长旺盛的对数期，这种培养称为连续培养。

六、细菌的新陈代谢

细菌的新陈代谢是指菌细胞内分解代谢与合成代谢的总和，其显著特点是代谢旺盛和代谢类型的多样化。

细菌的代谢过程以胞外酶水解外环境中的营养物质开始，经主动或被动转运机制进入胞质内。这些分子在一系列酶的催化作用下，经过一种或多种途径转变为共同通用的中间产物丙酮酸；再从丙酮酸进一步分解产生能量或合成新的碳水化合物、氨基酸、脂类和核酸。在上述过程中，底物分解和转化为能量的过程称为分解代谢；所产生的能量用于细胞组分的合成称为合成代谢；将两者紧密结合在一起称为中间代谢。伴随代谢过程细菌还将产生许多在医学上有重要意义的代谢产物。

（一）细菌的能量代谢

细菌能量代谢活动中主要涉及ATP形式的化学能。细菌的有机物分解或无机物氧化过程中释

放的能量通过底物磷酸化或氧化磷酸化合成ATP。

生物体能量代谢的基本生化反应是生物氧化。生物氧化的方式包括加氧、脱氢和脱电子反应，细菌则以脱氢或氢的传递更为常见。在有氧或无氧环境中，各种细菌的生物氧化过程、代谢产物和产生能量的多少均有所不同。以有机物为受氢体的称为发酵；以无机物为受氢体的称为呼吸，其中以分子氧为受氢体的是有氧呼吸，以其他无机物（硝酸盐、硫酸盐等）为受氢体的是厌氧呼吸。需氧呼吸在有氧条件下进行，厌氧呼吸和发酵必须在无氧条件下进行。

病原菌合成细胞组分和获得能量的基质（生物氧化的底物）主要为糖类，通过糖的氧化或酵解释放能量，并以高能磷酸键的形式（ADP、ATP）储存能量。现以葡萄糖为例，简述细菌的能量代谢。

发酵

1. EMP（Embden-Meyerhof-Parnas）途径　又称糖酵解。这是大多数细菌共有的基本代谢途径，专性厌氧菌产能的唯一途径。反应最终的受氢体为未彻底氧化的中间代谢产物，产生能量远比需氧呼吸少。1分子葡萄糖可生成2分子丙酮酸，产生2分子ATP和2分子$NADH+H^+$。关于丙酮酸以后的代谢随细菌的种类不同而异。

2. 磷酸戊糖途径　又称磷酸己糖（hexosemonophosphate，HMP）途径，是EMP途径的分支，由己糖生成戊糖的循环途径。其主要功能是为生物合成提供前体和还原能,反应获得的12（$NADPH+H^+$）可供进一步利用，产能效果仅为EMP途径的一半，所以不是产能的主要途径。

需氧呼吸　1分子葡萄糖在有氧条件下彻底氧化，生成CO_2、H_2O，并产生38分子ATP。需氧呼吸中，葡萄糖经过EMP途径生成丙酮酸，后者脱羧产生乙酰辅酶A后进入三羧酸循环彻底氧化。然后将脱出的氢进入电子传递链进行氧化磷酸化，最终以分子氧作为受氢体。需氧菌和兼性厌氧菌进行需氧呼吸。

厌氧呼吸　专性厌氧菌没有需氧电子传递链和完整的三羧酸循环，1分子葡萄糖经厌氧糖酵解只能产生2分子ATP，最终以外源的无机氧化物（CO_2、SO_4^{2-}、NO_3^-）作为受氢体的一类产能效率低的特殊呼吸。

（二）细菌的代谢产物

分解代谢产物和细菌的生化反应

各种细菌所具有的酶不完全相同，对营养物质的分解能力亦不一致，因而其代谢产物有别。根据此特点，利用生物化学方法来鉴别不同细菌称为细菌的生化反应试验。常见的有：

1. 糖发酵试验　不同细菌分解糖类的能力和代谢产物不同。例如大肠埃希菌能发酵葡萄糖和乳糖；而伤寒沙门菌可发酵葡萄糖，但不能发酵乳糖。即使两种细菌均可发酵同一糖类，其结果也不尽相同，如大肠埃希菌有甲酸脱氢酶，能将葡萄糖发酵生成的甲酸进一步分解为CO_2和H_2，故产酸并产气；而伤寒沙门菌缺乏该酶，发酵葡萄糖仅产酸不产气。

2. V-P试验　大肠埃希菌和产气肠杆菌均能发酵葡萄糖，产酸产气，两者不能区别。但产气肠杆菌能使丙酮酸脱羧生成中性的乙酰甲基甲醇，后者在碱性溶液中被氧化生成二乙酰，二乙酰与含胍基化合物反应生成红色化合物，是为V-P（Voges-Proskauer）试验阳性。大肠埃希菌不能生成乙酰甲基甲醇，故V-P试验阴性。

3. 甲基红试验　产气肠杆菌分解葡萄糖产生丙酮酸，后者经脱羧后生成中性的乙酰甲基甲醇，故培养液pH > 5.4，甲基红指示剂呈橘黄色，是为甲基红试验阴性。大肠埃希菌分解葡萄糖产生丙酮酸，培养液pH ≤ 4.5，甲基红指示剂呈红色，则为甲基红（methyl red）试验阳性。

4. 枸橼酸盐利用试验　当某些细菌（如产气肠杆菌）利用铵盐作为唯一氮源，并利用枸橼酸盐作为唯一碳源时，可在枸橼酸盐培养基上生长，分解枸橼酸盐生成碳酸盐，并分解铵盐生成氨，使培养基变为碱性，该试验为阳性。大肠埃希菌不能利用枸橼酸盐为唯一碳源，故在该培养基上不能生长，是为枸橼酸盐利用（citrate utilization）试验阴性。

5. 吲哚试验 有些细菌如大肠埃希菌、变形杆菌、霍乱弧菌等能分解培养基中的色氨酸生成吲哚（indole，靛基质），经与试剂中的对二甲基氨基苯甲醛作用，生成玫瑰吲哚而呈红色，是为吲哚试验阳性。

6. 硫化氢试验 有些细菌如沙门菌、变形杆菌等能分解培养基中的含硫氨基酸（如胱氨酸、甲硫氨酸）生成硫化氢，硫化氢遇铅或铁离子生成黑色的硫化物。

7. 尿素酶试验 变形杆菌有尿素酶，能分解培养基中的尿素产生氨，使培养基变碱，以酚红为指示剂检测为红色，是为尿素酶试验阳性。

细菌的生化反应用于鉴别细菌，尤其对形态、革兰染色反应和培养特性相同或相似的细菌更为重要。吲哚（I）、甲基红（M）、V-P（V）、枸橼酸盐利用（C）四种试验常用于鉴定肠道杆菌，合称为IMViC试验。例如大肠埃希菌对这四种试验的结果是“＋＋－－”，产气肠杆菌则为“－－＋＋”。

合成代谢产物及其医学上的意义

细菌利用分解代谢中的产物和能量不断合成菌体自身成分，如细胞壁、多糖、蛋白质、脂肪酸、核酸等，同时还合成一些在医学上具有重要意义的代谢产物。

1. 热原质 或称致热原，是细菌合成的一种物质，当注入人体或动物体内能引起发热反应，称为热原质（pyrogen）。产生热原质的细菌大多是革兰阴性菌，热原质即其细胞壁的脂多糖。

热原质耐高温，经高压蒸气灭菌（121℃、20min）亦不被破坏，250℃高温干烤才能破坏热原质。用吸附剂和特殊石棉滤板可除去液体中大部分热原质，蒸馏法效果最好。因此，在制备和使用注射药品过程中应严格遵守无菌操作，防止细菌污染。

2. 毒素与侵袭性酶 细菌产生外毒素和内毒素两类毒素，在细菌致病作用中甚为重要。外毒素（exotoxin）是多数革兰阳性菌和少数革兰阴性菌在生长繁殖过程中释放到菌体外的毒性蛋白质；内毒素（endotoxin）是革兰阴性菌细胞壁的脂多糖，当菌体死亡崩解后游离出来，外毒素毒性强于内毒素。

某些细菌可产生具有侵袭性的酶，能损伤机体组织，促使细菌的侵袭和扩散，是细菌重要的致病物质。如产气荚膜梭菌的卵磷脂酶，链球菌的透明质酸酶等。

3. 色素 某些细菌能产生不同颜色的色素（pigment），有助于鉴别细菌。细菌的色素有两类，一类为水溶性，能弥散到培养基或周围组织，如铜绿假单胞菌产生的色素使培养基或感染的脓汁呈绿色。另一类为脂溶性，不溶于水，只存在于菌体，使菌落显色而培养基颜色不变，如金黄色葡萄球菌的色素。细菌色素产生需要一定的条件，如营养丰富、氧气充足、温度适宜。细菌色素不能进行光合作用，其功能尚不清楚。

4. 抗生素 某些微生物代谢过程中产生的一类能抑制或杀死某些其他微生物或肿瘤细胞的物质，称为抗生素（antibiotics）。抗生素大多由放线菌和真菌产生，细菌产生的少，只有多黏菌素（polymyxin）、杆菌肽（bacitracin）等。

5. 细菌素 某些菌株产生的一类具有抗菌作用的蛋白质称为细菌素（bacteriocin）。细菌素与抗生素不同的是作用范围狭窄，仅对与产生菌有亲缘关系的细菌有杀伤作用。例如大肠埃希菌产生的细菌素称大肠菌素（colicin），其编码基因位于Col质粒上。细菌素在治疗上的应用价值已不被重视，但可用于细菌分型和流行病学调查。

6. 维生素 细菌能合成某些维生素（vitamin）除供自身需要外，还能分泌至周围环境中。例如人体肠道内的大肠埃希菌，合成的B族维生素和维生素K也可被人体吸收利用。

第三节 细菌的人工培养

了解细菌的生理需要，掌握细菌生长繁殖的规律，可用人工方法提供细菌所需要的条件来培养

细菌，以满足不同的需求。

一、培养细菌的方法

人工培养细菌，除需要提供充足的营养物质使细菌获得生长繁殖所需要的原料和能量外，尚要有适宜的环境条件，如酸碱度、渗透压、温度和必要的气体等。

根据不同标本及不同培养目的，可选用不同的接种和培养方法。常用的有细菌的分离培养和纯培养两种方法。已接种标本或细菌的培养基置于合适的气体环境，需氧菌和兼性厌氧菌置于空气中即可，专性厌氧菌须在无游离氧的环境中培养。多数细菌在代谢过程中需要CO_2，但分解糖类时产生的CO_2已足够其所需，且空气中还有微量CO_2，不必额外补充。只有少数菌如布鲁菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等，初次分离培养时必须在5%～10% CO_2环境中才能生长。

病原菌的人工培养一般采用35～37℃，培养时间多数为18～24小时，但有时需根据菌种及培养目的作最佳选择，如细菌的药物敏感试验则应选用对数期的培养物。

二、培养基

培养基（culture medium）是由人工方法配制而成的，专供微生物生长繁殖使用的混合营养物制品。培养基一般pH为7.2～7.6，少数的细菌按生长要求调整pH偏酸或偏碱。许多细菌在代谢过程中分解糖类产酸，故常在培养基中加入缓冲剂，以保持稳定的pH。培养基制成后必须经灭菌处理。

培养基按其营养组成和用途不同，分为以下几类：

基础培养基　基础培养基（basic medium）含有多数细菌生长繁殖所需的基本营养成分。它是配制特殊培养基的基础，也可作为一般培养基用。如营养肉汤（nutrient broth）、营养琼脂（nutrient agar）、蛋白胨水等。

营养培养基　若了解某种细菌的特殊营养要求，可配制出适合这种细菌而不适合其他细菌生长的营养培养基（enrichment medium），国内也称为增菌培养基。在这种培养基上生长的是营养要求相同的细菌群。它包括通用营养培养基和专用营养培养基，前者为基础培养基中添加合适的生长因子或微量元素等，以促使某些特殊细菌生长繁殖，例如链球菌、肺炎链球菌需在含血液或血清的培养基中生长；后者又称为选择性营养培养基，即除固有的营养成分外，再添加特殊抑制剂，有利于目的菌的生长繁殖，如碱性蛋白胨水用于霍乱弧菌的增菌培养。

选择培养基　在培养基中加入某种化学物质，使之抑制某些细菌生长，而有利于另一些细菌生长，从而将后者从混杂的标本中分离出来，这种培养基称为选择培养基（selective medium）。例如培养肠道致病菌的SS琼脂，其中的胆盐能抑制革兰阳性菌，枸橼酸钠和煌绿能抑制大肠埃希菌，因而使致病的沙门菌和志贺菌容易分离到。

鉴别培养基　用于培养和区分不同细菌种类的培养基称为鉴别培养基（differential medium）。利用各种细菌分解糖类和蛋白质的能力及其代谢产物不同，在培养基中加入特定的作用底物和指示剂，一般不加抑菌剂，观察细菌在其中生长后对底物的作用如何，从而鉴别细菌。如常用的糖发酵管、双糖铁培养基、伊红-美蓝琼脂等。

厌氧培养基　专供厌氧菌的分离、培养和鉴别用的培养基，称为厌氧培养基（anaerobic medium）。这种培养基营养成分丰富，含有特殊生长因子，氧化还原电势低，并加入美蓝作为氧化还原指示剂。其中心、脑浸液和肝块、肉渣含有不饱和脂肪酸，能吸收培养基中的氧；硫乙醇酸盐和半胱氨酸是较强的还原剂；维生素K_1、氯化血红素可以促进某些类杆菌的生长。常用的有庖肉培养基（cooked meat medium）、硫乙醇酸盐肉汤等，并在液体培养基表面加入凡士林或液体石蜡以隔绝空气。

此外，根据培养基的物理状态的不同分为液体、固体和半固体三大类。在液体培养基中加入1.5%的琼脂粉，即凝固成固体培养基；琼脂粉含量在0.3%～0.5%时，则为半固体培养基。

琼脂在培养基中起赋形剂作用，不具营养意义。液体培养基可用于大量繁殖细菌，但必须种入纯种细菌；固体培养基常用于细菌的分离和纯化；半固体培养基则用于观察细菌的动力和短期保存细菌。

三、细菌在培养基中的生长情况

在液体培养基中生长情况　大多数细菌在液体培养基生长繁殖后呈现均匀混浊状态；少数链状的细菌则呈沉淀生长；枯草芽胞杆菌、结核分枝杆菌等专性需氧菌呈表面生长，常形成菌膜。

在固体培养基中生长情况　将标本或培养物划线接种在固体培养基的表面，因划线的分散作用，使许多原混杂的细菌在固体培养基表面上散开，称为分离培养。一般经过18～24小时培养后，单个细菌分裂繁殖成一堆肉眼可见的细菌集团，称为菌落（colony）。当进行样品活菌计数时，以在平板培养基上形成的菌落数来间接确定其活菌数，以菌落形成单位（colony forming unit，CFU）来表示。挑取一个菌落，移种到另一培养基中，生长出来的细菌均为纯种，称为纯培养（pure culture）。这是从临床标本中检查鉴定细菌很重要的第一步。各种细菌在固体培养基上形成的菌落，在大小、形状、颜色、气味、透明度、表面光滑或粗糙、湿润或干燥、边缘整齐与否，以及在血琼脂平板上的溶血情况等均有不同表现，这些有助于识别和鉴定细菌。

细菌的菌落一般分为三型：

1. 光滑型菌落（smooth colony，S型菌落）　新分离的细菌大多呈光滑型菌落，表面光滑、湿润、边缘整齐。

2. 粗糙型菌落（rough colony，R型菌落）　菌落表面粗糙、干燥、呈皱纹或颗粒状，边缘大多不整齐。R型细菌多由S型细菌变异失去菌体表面多糖或蛋白质形成。R型细菌抗原不完整，毒力和抗吞噬能力都比S型菌弱。但也有少数细菌新分离的毒力株就是R型，如炭疽芽胞杆菌、结核分枝杆菌等。

3. 黏液型菌落（mucoid colony，M型菌落）　黏稠、有光泽，似水珠样。多见于有厚荚膜或丰富黏液层的细菌，如肺炎克雷伯菌等。

在半固体培养基中生长情况　半固体培养基黏度低，有鞭毛的细菌在其中仍可自由游动，沿穿刺线呈羽毛状或云雾状混浊生长。无鞭毛细菌只能沿穿刺线呈明显的线状生长。

四、人工培养细菌的用途

在医学中的应用　细菌培养对疾病的诊断、预防、治疗和科学研究都具有重要的作用。

1. 感染性疾病的病原学诊断　明确感染性疾病的病原菌必须取患者有关标本进行细菌分离培养、鉴定和药物敏感试验，其结果可指导临床用药。

2. 细菌学的研究　有关细菌生理、遗传变异、致病性和耐药性等研究都离不开细菌的培养和菌种的保存等。

3. 生物制品的制备　供防治用的疫苗、类毒素、抗毒素、免疫血清及供诊断用的菌液、抗血清等均来自培养的细菌或其代谢产物。

在工农业生产中的应用　细菌培养和发酵过程中多种代谢产物在工农业生产中有广泛用途，可制成抗生素、维生素、氨基酸、有机溶剂、酒、酱油、味精等产品。细菌培养物还可生产酶制剂，处理废水和垃圾，制造菌肥和农药等。

在基因工程中的应用　将带有外源性基因的重组DNA转化给受体菌，使其在菌体内能获得表达。细菌操作方便，容易培养，繁殖快，基因表达产物易于提取纯化，故可以大大地降低成本。如应用基因工程技术已成功地制备了胰岛素、干扰素、乙型肝炎疫苗等。

第四节　细菌的分类

一、细菌的分类原则与层次

细菌分类学（bacterial taxonomy）既是一个古老的、传统的学科，又是一个现代化的、发展的学科。细菌的分类原则上分为传统分类和种系分类（phylogenetic classification）两种。前者以细菌的生物学性状为依据，由于对分类性状的选择和重视程度带有一定的主观性，故又称为人为分类；后者以细菌的发育进化关系为基础，故又称为自然分类。细菌的分类（classification）、命名（nomenclature）和鉴定（identification）是细菌分类学相关的三个领域，具体方法包括表型分类、分析分类和基因型分类。

表型分类　以细菌的形态和生理特征为依据的分类方法，即选择一些较为稳定的生物学性状，如菌体形态与结构、染色性、培养特性、生化反应、抗原性等作为分类的标记。它奠定了传统分类的基础。20世纪60年代开始借助计算机将拟分类的细菌按其性状的相似程度进行归类（一般种的水平相似度 > 80%），以此划分种和属，称为数值分类。

分析分类　应用电泳、色谱、质谱等方法，对菌体组分、代谢产物组成与图谱等特征进行分析，例如细胞壁脂肪酸分析、全细胞脂类和蛋白质的分析、多点酶电泳等，为揭示细菌表型差异提供了有力的手段。

基因型分类　分析细菌的遗传物质，揭示了细菌进化的信息，是最精确的分类方法。包括DNA碱基组成（G+C mol%）、核酸分子杂交（DNA-DNA同源性、DNA-rRNA同源性）和16S rRNA同源性分析，比较细菌大分子（核酸、蛋白质）结构的同源程度等，其中16S rRNA更为重要，因其在进化过程中保守、稳定，很少发生变异，是种系分类的重要依据。

随着方法学的发展，细菌的分类不断完善而且更加科学。1987年Woese在大量16S rRNA序列分析的基础上，描绘出生物系统发育树，由真细菌（Eubacteria）、古生菌（Archaebacteria）和真核生物（Eukaryotes）共同构成并列的生物三个域。真细菌指比较常见的细菌（bacteria）。古生菌和真细菌同为原核生物，核糖体均为70S。古生菌生存在极端环境（高温、高盐、低pH），细胞壁无肽聚糖，蛋白质合成起始甲硫氨酸不需甲酰化，tRNA基因中有内含子，含有多种RNA多聚酶，蛋白质合成对白喉毒素的抑制敏感，而对氯霉素的抑制不敏感，这些特性与真核生物相同，而与真细菌不同。

国际上最具权威性的细菌分类系统专著“伯杰氏系统细菌学手册（1984）”和“伯杰氏鉴定细菌学手册，第9版（1994）”都已反映了细菌种系分类的研究进展。最近出版的“伯杰氏系统细菌学手册（第2版2004）”又收集了4 000余种模式菌株的16S rDNA序列，力求细菌分类学模式（taxonomic model）和种系发育模式（phylogenetic model）的一致性，将原核生物分为两个域，即古生菌域（Archaea）和细菌域（Bacteria），前者分为2个门，后者分为24个门。

《伯杰鉴定细菌学手册》第9版中基于细胞壁的特征将细菌分为四大类目、35个群，其中与人类疾病相关的细菌列入表1-1。目前，尚未在古生菌中发现病原菌。

细菌的分类层次与其他生物相同，也是界、门、纲、目、科、属、种。在细菌中常用属和种。

种（species）是细菌分类的基本单位。生物学性状基本相同的细菌群体构成一个菌种；性状相近关系密切的若干菌种组成一个菌属（genus）。同一菌种的各个细菌，虽性状基本相同，但在某些方面仍有一定差异，差异较明显的称亚种（subspecies，subsp.）或变种（variety，var.），差异小的则为型（type）。例如按抗原结构不同而分血清型（serotype）；对噬菌体和细菌素的敏感性不同而分噬菌体型（phage-type）和细菌素型（bacteriocin-type）；生化反应和其他某些生物学性状不同而分为生物型（biotype）。变种因易与亚种混淆，已不再单独使用，与其他词复合构成代替“型”的术语，如biovar就是生物型（biotype）。

表1-1 与人类疾病有关细菌的分类

类别	属
Ⅰ革兰阴性有细胞壁的真细菌	
螺旋体	密螺旋体属
	疏螺旋体属
	钩端螺旋体属
需氧/微需氧、有动力、螺旋形/弧形革兰阴性菌	螺菌属
	弯曲菌属
	螺杆菌属
需氧/微需氧、革兰阴性杆菌与球菌	假单胞菌属
	军团菌属
	奈瑟菌属
	莫拉菌属
	产碱杆菌属
	布鲁菌属
	罗卡利马体属
	鲍特菌属
	弗朗西斯菌属
兼性厌氧革兰阴性杆菌	埃希菌属（和大肠杆菌状相关细菌）
	志贺菌属
	沙门菌属
	克雷伯菌属
	变形杆菌属
	普罗威登斯菌属
	耶尔森菌属
	弧菌属
	巴氏杆菌属
	嗜血杆菌属
厌氧革兰阴性直、弯或螺旋形杆菌	类杆菌属
	梭杆菌属
	普雷沃菌属
厌氧革兰阴性球菌	韦荣球菌属
立克次体与衣原体	立克次体属
	考克斯体属
	衣原体属
非光合滑行细菌	二氧化碳嗜纤维菌属
Ⅱ革兰阳性有细胞壁的细菌	
革兰阳性球菌	肠球菌属
	葡萄球菌属
	链球菌属
	消化链球菌属
可形成芽胞的革兰阳性杆菌与球菌	芽胞杆菌属
	梭菌属
形态规则的无芽胞革兰阳性杆菌	李斯特菌属
	丹毒丝菌属

续表

类别	属
形态不规则的无芽胞革兰阳性杆菌	棒状杆菌属
	放线菌属
	动弯杆菌属
分枝杆菌	分枝杆菌属
放线菌	奴卡菌属
	链霉菌属
	红球菌属
Ⅲ无细胞壁真细菌	支原体属
	脲原体属
Ⅳ古细菌	（未发现病原菌）

对不同来源的同一菌种的细菌称为该菌的不同菌株（strain）。具有某种细菌典型特征的菌株称为该菌的标准菌株（standard strain）或模式菌株（type strain）。

二、细菌的命名法

细菌的命名采用拉丁双名法，每个菌名由两个拉丁字组成。前一字为属名，用名词，大写；后一字为种名，用形容词，小写。全名用斜体字印刷。一般属名表示细菌的形态或发现者或有贡献者，种名表明细菌的性状特征、寄居部位或所致疾病等。中文的命名次序恰与拉丁文相反，是种名在前，属名在后。例如*Staphylococcus aureus*，金黄色葡萄球菌；*Escherichia coli*，大肠埃希菌；*Neisseria meningitidis*，脑膜炎奈瑟菌等。属名亦可不将全文写出，只用第一个字母代表，如*M.tuberculosis*，*S.typhi*等。有些常见菌有其习惯通用的俗名，如tubercle bacillus，结核杆菌；typhoid bacillus，伤寒杆菌；meningococcus，脑膜炎球菌等。有时泛指某一属细菌，不特指其中某个菌种，则可在属名后加*sp.*（单数）或*spp.*（复数），如*Salmonella sp.*表示为沙门菌属中的细菌。

展　望

对细菌生物学性状的了解，包括细菌的形态、结构、功能、理化特性和代谢特点等的研究犹如学习人体解剖与生理学在医学上的意义，也是细菌分类学的基础。

人们认识细菌已有几个世纪的历史，细菌学的飞速发展还是在20世纪70年代以后，源自相关学科的发展与渗透，如电子显微镜的应用，电子显微镜与微机图像处理的结合，生理、生化、免疫学、分子遗传学、分子生物学和生物信息学等的发展，使细菌形态学与生理学的研究出现了一个崭新的局面，形成许多新的研究分支和领域，令人欢欣鼓舞。例如，细菌形态描述中提到自然界广泛存在(包括人体内）的生物被膜细菌，是在20世纪70年代由于电镜、免疫学和标准生物膜培养等技术的使用才确定了生物被膜理论。20世纪90年代以后由于激光共聚焦显微镜、生物化学、分子生物学等相关理论和方法的运用，生物被膜的研究有了良好的开端。当前约60%临床感染是由生物被膜细菌引起，这些细菌逃逸宿主免疫系统并参与细菌耐药性的形成，在医学上有着重要的意义。生物被膜的形成涉及细菌菌毛、鞭毛、荚膜和胞外多糖的参与，是细菌对环境应答产生的周密的基因调控过程。同样，跨膜蛋白参与的双组分信号传导系统的发现，是细菌所特有的对环境信号应答调控模式，一种细菌可以有十几个或几十个双组分系统。用这种模式可以解释细菌的趋化作用。微生物基因组计划和致病岛研究中发现的Ⅰ～Ⅴ型蛋白分泌系统，广泛存在于革兰阴性致病菌、衣原体和疏螺旋体中，由此揭示了致病菌与宿主细胞相互作用的奥妙。令人感兴趣的是，细菌只是微小的单细胞生物，但上述种种发现远不是这么简单，目前的发现还仅仅是初步的或表面的，例如生物被膜细菌与

浮游细菌表型差别的本质是什么？细菌如此众多的双组分信号传导系统的功能是什么？Ⅲ型、Ⅳ型和Ⅴ型分泌系统介导细菌致病过程的共性规律是什么？许多问题都需要更深入的研究。已有的资料表明细菌结构和功能的研究宏观上必须扩展到细菌、宿主和环境三者的生态关系，微观上必须从分子水平探求其相互间的内在联系，即以细菌的基因调控为中心阐明其结构和生理活动的规律及与人类的关系。

相信随着微生物基因组和功能基因组研究的不断深入，探索基因的结构与功能，伴随细菌细胞内信号转导出现的蛋白磷酸化过程，揭示细菌的代谢途径的调节机制及其基因调控的分子基础，进而了解细菌与宿主细胞的关系，及其致病机制，对感染性疾病的诊断、预防和治疗有重要的指导作用。揭示细菌代谢的特点，探讨多样化和极端环境下生存微生物的本质，可有助于开发微生物资源，为人类服务。

（陈锦英）

第二章　细菌的遗传与变异

细菌与其他生物一样，具有遗传性和变异性。细菌的形态结构、新陈代谢、致病性、免疫性和对药物的敏感性等性状都是由细菌的遗传物质所决定。这些性状在子代与亲代中表现相同称为遗传（heredity）。而子代与亲代之间以及子代与子代之间出现差异则称为变异（variation）。遗传使细菌的种属性状保持稳定；而变异可使细菌产生变种和新种，有利于物种的发展和进化。

细菌的变异有遗传型变异和非遗传型变异。前者是细菌遗传物质结构发生改变引起的变异，新获得的性状可稳定地传给后代，又称基因型变异（genotypic variation）。后者是由于外界环境条件的作用引起的变异，遗传物质的结构未改变，又称为表型变异（phenotypic variation），表型变异不能遗传。细菌的变异现象涉及面很广，如何区分遗传型和非遗传型变异要根据情况具体分析来确定。

近年来对细菌基因组序列分析将会使细菌基因结构与功能的研究有新的突破。随着对细菌遗传变异本质认识的不断深入，将会大大推动细菌致病机制、耐药机制、细菌感染的快速诊断及其防治新思路的研究。因此，了解细菌的遗传与变异具有十分重要的理论意义和实用价值。

The DNA replication process of bacteria genome is very accurate, but occasional inaccuracies produce a slightly altered nucleotide sequence in one of the progeny cells, such a mutation is heritable and is called genotypic variation. Phenotypic variation occurs when the expression of genes is only changed in bacterial response to the environment.It is reversible, being dependent on environment conditions, and is not a form of mutation. Usually bacterial variation phenomena include: ①their morphological and structure variation, ②their virulence variation, ③their resistance variation to antimicrobial agents, ④their colony shape variation.

Bacterial genetic materials

1. Bacterial chromosome　In virtually all bacteria so far studied, most of the genetic information required by the cell is arranged in the form of a single circular double-stranded chromosome. With few exceptions, bacterial genes are haploid. One major difference between bacterial DNA and eukaryotic DNA is that bacterial DNA has no introns.

2. Plasmid

(1) Plasmids are extrachromosomal, double-stranded, circular DNA molecules that can capable of replicating independently of the bacterial chromosome.

(2) Although plasmids are usually extrachromosomal, they can be integrated into chromosome.

(3) Conjugative plasmids can be transfer from cell to cell by conjugation. They are large and are usually present in a few copies per cell. Nonconjugative plasmids are usually small, they are frequently present in many copies per cell, and they can be mobilized to transfer by other conjugative plasmids present in the same donor cell.

(4) Plasmids carry the following functions and structures of medical importance: resistance to antibiotics or heavy metals, virulence factors, fertility, some biochemical properties and so on.

3. Bacteriophage

(1) Bacteriophage (phage) are certain types of bacterial virus. The nucleic acid molecule of phage is surrounded by a protein coat. Some phages contain DNA, others contain RNA.

(2) Phages can be distinguished on the basis of their mode of ropagation. Virulent phage produce many copies of themselves as they kill their host cell. Temperate phages are able to enter a nonlytic prophage state. Bacteria carrying prophage are termed lysogenic.

4. Transposable element

(1) Transposons are genetic elements which may be inserted within the same replicon or may be intergrated into another replicon. The specificity of sequence at the insertion site is generally low, so that transposons often seem insert in a random pattern.

(2) The relatively short transposable element are known as insertion sequences (IS).The composite and complex transposons carry genes for specialized functions such as antibiotic resistance and are flanked by insertion sequences or repeat sequences.

Gene transfer

1. Transformation Transformation is direct uptake of donor DNA by recipient cells. It depends on the competence of recipient cells for transformation. Many bacteria, unable to undergo natural transformation, can be forced to incorporate plasmids by treatment with calcium chloride and temperature shock.

2. Conjugation Conjugation is a process in which the donor cell makes contact with the recipient cell and DNA is transferred directly from the donor into the recipient. Plasmids capable of mediating conjugation carry genes coding sex pilus on the surface of the donor. The top of the pilus attaches to the surface of the recipient and holds the two cells together so that DNA can then pass into the recipient cell.

3. Transduction Transduction involves the transfer of DNA between cells by bacteriophages.

(1) Generalized transduction occurs when the phage carries a segment from any part of the bacterial chromosome at a frequency of about 1 in 106.

(2) Specialized transduction occurs when the phage DNA that has integrated into the bacterial chromosome and occasionally the prophage is excised and picks up DNA adjacent to the phage intergration site. The added piece of bacterial DNA is transduced to the chromosome of the new host cell by the defective phage DNA.

4. Lysogenic conversion Lysogenic conversion is that the presence of prophage DNA constitutes a genetic alterative to the host bacterium.

5. Protoplast fusion Two protoplasts from their respective bacteria are mixed and fused by use of polyethyleneglycol, then the recombinant bacteria are selected.

第一节 细菌的变异现象

形态结构的变异 细菌的形态、大小及结构受外界环境条件的影响可发生变异。细菌在β-内酰胺类抗生素、抗体、补体和溶菌酶等因素影响下，细胞壁合成受阻，失去细胞壁变成L型细菌。有些细菌变异后可失去特殊结构，如有鞭毛的伤寒沙门菌变异后可失去鞭毛，称为H-O变异。由于鞭毛的动力使细菌在固体培养基上呈弥散生长，菌落似薄膜（德语hauch，意为薄膜），称H菌落。失去鞭毛的细菌呈单个菌落生长，称为O菌落（德语ohne hauch，意为无薄膜）。变异的肺炎链球菌失去荚膜，同时毒力也降低。

毒力变异 细菌的毒力变异包括毒力的增强和减弱。白喉棒状杆菌感染β-棒状杆菌噬菌体后

变成溶原性细菌，获得产生白喉毒素的能力，由无毒株变成有毒株。卡-介（Calmette-Güérin）二氏将有毒力的牛型结核分枝杆菌在含胆汁、甘油和马铃薯的培养基上经13年传230代，获得毒力减弱而保留免疫原性的变异株，即卡介苗（Bacillus of Calmette-Güérin，BCG），用于结核病的预防。

耐药性变异　细菌对某种抗菌药物由敏感变成耐药的变异，成为耐药菌株。有的细菌表现为同时对多种抗菌药物耐药，称为多重耐药菌株。自抗生素广泛应用以来，细菌对抗菌药物的耐药性不断增长成为世界范围内关注的问题。还有的细菌变异后产生对药物的依赖性，如痢疾志贺菌链霉素依赖减毒株（SmD株），可用于痢疾的预防。

菌落变异　肠道杆菌的菌落变异较为常见。由光滑型（smooth,S型）变为粗糙型（rough,R型），称为S-R变异。这种变异是因为失去LPS的特异性寡糖重复单位引起的，往往伴有其他性状的改变，如毒力、抗原性和生化反应等。

第二节　细菌的遗传物质

细菌的遗传物质是DNA，DNA分子是基因的载体，携带各种遗传信息。决定细菌所有特性的遗传信息位于细菌的基因组（genome）内，包括细菌的染色体和染色体外的遗传物质。

细菌染色体

细菌染色体（chromosome）是一个环状双螺旋DNA长链，按一定构型反复回旋而成的松散网状结构，附着在横膈中介体或细胞膜上。细菌染色体与真核细胞者不同，其特征为：①相对较小，不编码的DNA序列很少。一般除了rRNA编码基因是多拷贝以便装备大量核糖体满足细菌的迅速生长外，绝大多数结构基因保持单拷贝形式，很少有重复序列；②功能相关的基因高度集中组成操纵子，构成一种组合表达单位，称为转录子（transcript），行使既简单又有效的调节机制；③具有连续的基因结构，无内含子，转录后形成的RNA不必加工剪切，边转录边翻译成多肽；④染色体的数目取决于细菌的生长条件。对数生长期，每个菌细胞可以有2～4个染色体，多拷贝完全相同，以保证分裂时每个子细胞都有一个完整的染色体。因此，细菌仍然是单倍体。仅极少数细菌，如霍乱弧菌有两条染色体，大的含2961146 bp，小的含1072314 bp，每条染色体上基因安排是不相同的；⑤细菌染色体DNA的复制，在大肠埃希菌已被证明是双向复制，即从复制起点开始，按顺时针和逆时针两个方向进行，两个复制叉在距起点180°处汇合，全过程约需20分钟。

由于全基因组鸟枪-装配法（whole-genome shotgun-and-assembly）的应用，极大地促进微生物基因组计划的发展。1995年完成第一个流感嗜血杆菌Rd株的基因组测序，1997年完成人类基因组计划模式生物大肠埃希菌K-12 MG1655的基因组测序。截至2009年8月已完成889 株细菌的基因组测序（不包括古生菌），其中大约60%为致病菌和条件致病菌；另外还有2755株细菌基因组测序正在进行中（http：//genomesonline.org）。现已完成基因组测序的大肠埃希菌共有28株，其大小为4.5～5.6Mb，G+C含量为50%～50.8%。与非致病性大肠埃希菌K-12 MG1655（4.6Mb）相比，肠出血性大肠埃希菌（EHEC）EDL933株和尿道致病大肠埃希菌（UPEC）CFT073株分别有4.1 Mb和3.9Mb的同源保守序列，三者共有基因为2996个，这些核心基因的区域称为主干序列（backbone segment）。除主干序列外，EHEC和UPEC各自携带有1.3～1.4Mb的独特序列，推测其是在致病菌演变的过程中经基因水平转移（horizontal gene transfer，HGT）获得。这些独特片段长度为5～100kb，G+C含量与基因组不同，分散在基因组中形成马赛克结构，称为基因组岛（genome island， GI）；其中携带毒力相关基因的大片段则称为致病岛（pathogenicity island， PAI）。上述类似的发现已在多种致病菌中得以证实。

染色体外的遗传物质

（一）质粒（plasmid）

质粒是细菌染色体外的遗传物质，存在于细胞质中，具有自主复制能力，是闭合环状的双链

DNA分子。质粒不是细菌生长繁殖所必需的物质，可自行丢失或人工处理（例如高温、紫外线、吖啶橙、溴化乙啶等）而消除（curing）。质粒携带的遗传信息能赋予宿主菌某些生物学性状，有利于细菌在特定的环境条件下生存。质粒的分类如下：

1. 根据质粒能否通过细菌的接合作用进行传递，将其分为接合性质粒（conjugative plasmid）和非接合性质粒（nonconjugative plasmid）两大类。接合性质粒带有与接合传递有关的基因（*tra*基因等），一般来讲基因组较大，为40～100kb，如F质粒、R质粒。非接合性质粒基因组较小，一般在15kb以下，但也有例外，如志贺菌的毒力质粒基因组220kb。非接合性质粒在一定条件下通过与其共存的接合性质粒的诱动（mobilization）或转导而传递。

2. 根据质粒在宿主菌内拷贝数的多少，将其分为严紧型质粒（stringent plasmid）和松弛型质粒（relaxed plasmid）。拷贝数（copy）是指每个细菌染色体所拥有的平均质粒数。严紧型质粒的拷贝数较低，仅为数个，其复制与染色体的复制同步，一般为分子质量较大的质粒。松弛型质粒往往分子质量较小，拷贝数高，为20～60个或更多，其复制与染色体的复制不相关。

3. 根据质粒的不相容性进行分类，常用于流行病学调查。不相容性（incompatibility）指结构相似、密切相关的质粒不能稳定地共存于同一个宿主菌内的现象，反之为相容性（compatibility）。这是由于质粒间具有相同或相似的复制（replication）及分配（partition）调控机制所决定的。迄今已将肠杆菌科的细菌质粒划分为30余个不相容组，假单胞菌属11个，葡萄球菌属7个。

4. 根据质粒基因编码的生物学性状进行分类，种类较多，如：①致育性质粒（fertility plasmid）或称F质粒，编码性菌毛，介导细菌之间的接合传递。②耐药性质粒（resistance plasmid），其中可以通过细菌间的接合进行传递的称为可接合传递的耐药性质粒，又称为R质粒或R因子（R factor），常编码对数种抗菌药物或重金属的抗性，在革兰阴性菌中较多见。另外，不能通过细菌间接合进行传递的称为非接合传递的耐药性质粒，又称r质粒，但可通过噬菌体转导在细菌间进行传递，往往在革兰阳性菌（如葡萄球菌）中较多见。③毒力质粒（virulence plasmid），编码与细菌致病性有关的毒力因子。有大肠埃希菌的溶血素质粒（Hly质粒）；编码大肠菌素的Col质粒（colicinogenic plasmid）；肠产毒性大肠埃希菌中编码不耐热肠毒素的LT质粒和编码耐热肠毒素的ST质粒，及编码菌毛的CAF Ⅰ/CAF Ⅱ质粒等。细菌携带有哪种质粒，则有相应的功能，但也有一种细菌带有几种质粒或一种质粒可以同时决定几种功能。某些耐药性质粒上还带有编码毒力的基因，使宿主菌不仅获得耐药性，而且致病性也得到增强。

（二）噬菌体（bacteriophage or phage）

噬菌体是侵袭细菌、真菌、放线菌和螺旋体的病毒，也是赋予宿主菌生物学性状的遗传物质。噬菌体必须在活菌内寄生，有严格的宿主特异性，其特异性取决于噬菌体吸附器官和受体菌表面受体的分子结构和互补性（图2-1）。

1. 形态与结构　噬菌体的体积微小，需用电子显微镜观察，其形态有蝌蚪形、微球形和细杆形。大多数噬菌体呈蝌蚪形，由头部和尾部两部分组成（图2-2）。例如大肠埃希菌T4噬菌体头部呈六边形，立体对称，大小约96nm×65nm，内含遗传物质核酸；尾部是一个管状结构，长95～125nm，直径13～20nm，由一个内径约2.5nm中空的尾髓和外面包着的尾鞘组成。尾部末端有尾板、尾刺和尾丝，尾板内可能有使宿主菌细胞壁裂解的溶菌酶。在头尾连接处有尾领结构。

噬菌体由核酸和蛋白质组成。蛋白质构成噬菌体头部的外壳及尾部。蛋白质起着保护核酸的作用，并决定噬菌体的外形和表面特征。噬菌体的核酸仅有一种类型，即DNA或RNA，双链或单链，环状或线状。

2. 噬菌体与细菌的相互关系　噬菌体感染细菌有两种结果，一是噬菌体增殖，细菌被裂解，建立溶菌性周期，这类噬菌体称为毒性噬菌体（virulent phage）；二是噬菌体核酸与细菌染色体整合，成为前噬菌体（prophage），细菌变成溶原性细菌（lysogenic bacteria），建立溶原性周期，这类噬菌体称为温和噬菌体（temperate phage）。

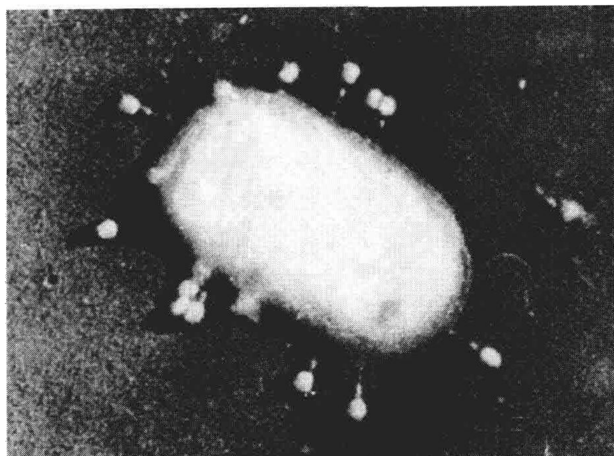


图2-1　噬菌体吸附于大肠埃希菌
×20000

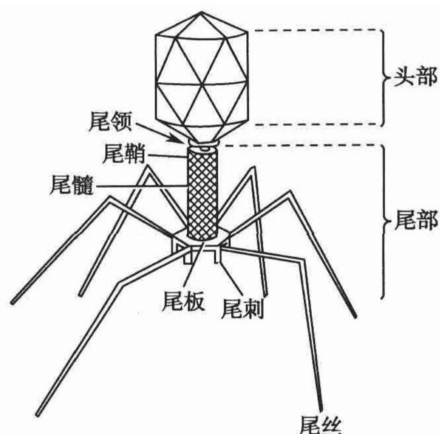


图2-2　蝌蚪形噬菌体结构模式图

（1）溶菌性周期：指毒性噬菌体在宿主菌内的增殖过程，包括三个阶段，即吸附穿入、生物合成、成熟释放。噬菌体感染细菌时，其尾丝为吸附器官，能识别宿主菌表面的特殊受体，然后分泌酶类溶解细胞壁，使细胞壁出现小孔，尾髓再收缩，将头部的核酸注入宿主菌内，蛋白质外壳留在菌细胞外。继而，进入菌细胞内的噬菌体核酸首先经早期转录产生早期蛋白质（核酸复制所必需的酶类），并复制子代核酸，再进行晚期转录产生噬菌体的结构蛋白（头部外壳和尾部）。蛋白质与核酸分别合成后，按一定程序装配，成熟为完整的子代噬菌体。子代噬菌体达到一定数量时，由于噬菌体合成酶类的溶解作用，菌细胞突然裂解，释放出的噬菌体再感染其他敏感细菌。

（2）溶原性周期：温和噬菌体感染细菌后不增殖，其核酸整合到细菌染色体上，即前噬菌体，随细菌染色体的复制而复制，并随细菌分裂而分配至子代细菌的染色体中。带有前噬菌体基因组的细菌称为溶原性细菌。温和噬菌体又称为溶原性噬菌体（lysogenic phage）。偶尔自发地或在某些理化或生物因素的诱导下，整合的前噬菌体脱离宿主菌染色体，进入溶菌性周期导致细菌裂解，并产生新的成熟噬菌体。可见温和噬菌体可有溶原性周期和溶菌性周期（图2-3），而毒性噬菌体只有一个溶菌性周期。

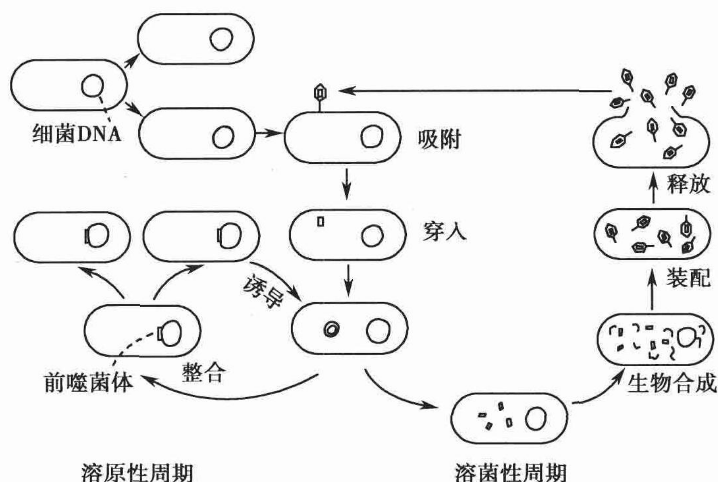


图2-3　溶原性细菌的溶原性周期和溶菌性周期

溶原性细菌可被其他噬菌体感染，但对其本身产生的噬菌体或密切相关的噬菌体具有免疫性，这是由于前噬菌体基因组编码的阻遏物（repressor）阻抑了噬菌体大部分基因功能的表达所致。免疫性不同于对噬菌体的抗性突变，后者是使噬菌体不能吸附于细菌的表面受体。

（三）转座因子（transposable element）

转座因子是一类不依赖于同源性重组可以在细菌的基因组（染色体、质粒、噬菌体）中从一个位置转移到另一个位置上独特的DNA片段，有时也形象地称之为跳跃基因（jumping genes）或移动基因（movable genes）。早在20世纪40年代末由B. McClintock首先在玉米中发现了转座因子，但直到1967年细菌中发现了转座因子之后，她的划时代发现才被重视。现在发现高等动物和植物中都有转座因子存在，而研究得最为深入的还是细菌，几乎在所有的细菌中都发现存在转座因子。

1. 转座因子的分类　转座因子根据其结构和生物学特性的不同分为三类。

（1）插入序列（insertion sequence，IS）：IS是在细菌中首先发现的一类最简单的转座因子，它除了与转座功能有关的基因外不带有任何其他基因。IS的长度为0.7～2.5kb，中央序列编码转座酶（transposase），两端具有长度不一（10～40bp）的反向重复序列（inverted repeat，IR）（图2-4）。转座过程由IS编码的转座酶识别IR序列，并催化转座因子发生删除作用，进而从基因组上解离出来。IS可独立地作为细菌染色体、质粒和某些噬菌体的正常组分存在，也可成为转座子的一部分，每种IS还可有多个拷贝。例如，大肠埃希菌染色体上有8个IS1，5个IS2和5个IS3；大肠埃希菌F质粒含有一个IS2和两个IS3。由于这些相同的IS序列存在，是形成同源性重组的条件之一。细菌中常见的IS见表2-1。

表2-1　细菌中常见的插入序列（IS）

IS种类	长度（bp）	两端IR（bp）	来源
IS1	768	20/23	大肠埃希菌
IS2	1327	32/41	大肠埃希菌
IS3	1258	29/40	大肠埃希菌
IS4	1426	16/18	大肠埃希菌
IS5	1195	15/16	大肠埃希菌
IS6	820	14/14	Tn6（肠杆菌）
IS10	1329	17/22	Tn10（肠杆菌R100）
IS21	2132	10/11	R68-45（铜绿假单胞菌）
IS50	1534	8/9	Tn5（肠杆菌）
IS431L	800	22	金黄色葡萄球菌
IS431R	786	14	金黄色葡萄球菌

（2）转座子（transposon，Tn）：Tn的结构比较复杂，除了携带与转座功能有关的基因外，还携带有编码其他功能的基因（如耐药性基因、重金属抗性基因、糖发酵基因、肠毒素基因等），所以易于鉴别。转座子广泛存在于革兰阴性和革兰阳性细菌中，很容易将携带的药物抗性基因在细菌的染色体、质粒和噬菌体基因组之间转移，导致耐药性基因的播散，是自然界中细菌耐药性产生的重要原因之一。此外，转座子通过位置移动可以改变遗传物质的核苷酸序列，产生插入突变、基因重排或插入位点附近基因表达的改变。因此，转座子在赋予细菌生物学性状改变和促进细菌进化过程中的作用不可忽视。

细菌转座子根据其结构不同可以分为两类（表2-2）：①复合转座子（composite transposon）：由两个完全相同或类似的IS及中心区域的某些抗性基因组成，IS位于Tn的两个末端，呈正向（DR）或反向（IR）排列；在这类转座子中，IS可以带动整个Tn的转座，也可单独进行转座，如Tn5、Tn9、Tn10等（图2-4）；②复杂转座子（complex transposon）：其两端没有IS，由三个部分组成，即末端30～40bp的正向或反向的重复序列，中央与转座功能有关的基因和抗性基因（图2-5）。这类Tn总是作为一个整体单位进行转座，进化上有着共同的起源，常统称为TnA转座子，如Tn1、Tn3等。

（3）Mu噬菌体：是一类具有转座作用的大肠埃希菌温和噬菌体，可随机插入宿主DNA中。

表2-2　常见转座子的基本特征

转座子	长度（bp）	末端特征	耐药基因或其他基因
复合转座子			
Tn5	5700	IS50	Kan（卡那霉素）Ble（博来霉素）Str（链霉素）
Tn9	2638	IS1	Cam（氯霉素）
Tn10	9300	IS10	Tet（四环素）
Tn903	3100	IS903	Kan（卡那霉素）
Tn1681	2086	IS1	Ent（肠毒素）
TnA转座子			
Tn1	5000	IR（38bp）	Ap（氨苄西林）
Tn3	4957	IR（38bp）	Ap（氨苄西林）
Tn551	5300	IR（35bp）	Em（红霉素）
Tn501	8200	IR（38bp）	Hg（汞）

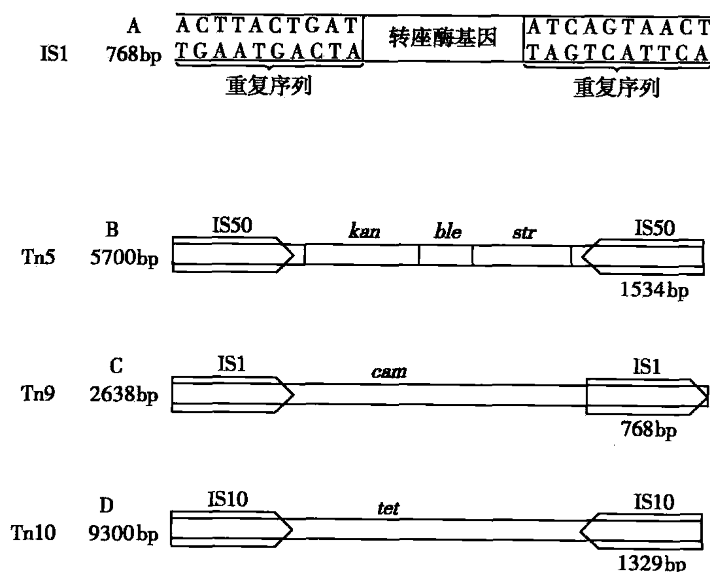


图2-4　插入序列和复合转座子模式图

A. IS1：中间为转座酶基因，两端为反向重复序列；B. Tn5：中间为卡那霉素、博来霉素、链霉素抗性基因，两端为IS；C. Tn9：中间为氯霉素抗性基因，两端为IS；D. Tn10：中间为四环素抗性基因，两端为IS

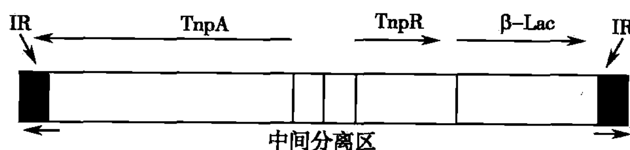


图2-5　TnA转座子（Tn3）模式图

β-Lac编码氨苄西林抗性，*TnpA*基因编码转座酶，*TnpR*基因编码的蛋白质抑制*TnpA*的合成活性并促进分离区发生位点特异的切割

Mu噬菌体的最初发现是基于其插入基因后导致突变的能力。它的核酸为线性DNA分子，游离状态和整合状态的Mu噬菌体具有相同的基因序列，但不含末端IR序列。Mu的溶原性整合和裂解周期的复制均以转座方式进行，借此Mu噬菌体可以作为菌体内基因克隆的工具。

2. 转座机制　根据转座子的转座行为不同，有以下几种类型（图2-6）。

（1）非复制型转座（nonreplicative transposition）：在转座过程中将Tn转座到别的位置以后，原

来位置上的Tn便不再存在，也称为保留型转座（conservative transposition）。

（2）复制型转座（replicative transposition）：Tn转移到另一位置后，原来位置上的Tn并不消失。在这一过程中由原来位置上的Tn又复制了一份到另一位置上。实际上由两个过程组成，即共联体（cointegrate）的形成和共联体的解离。

（3）接合型转座（conjugative transposition）：Tn从染色体或质粒上切离下来形成一个共价闭合环状的中介物，通过细菌的接合作用将中介物的一条单链转移到受体菌中，经复制成为一个双链环状DNA。最后以这一形式整合到受体菌的染色体或质粒上。例如肠球菌染色体上发现的Tn916，可以在细菌间通过接合作用进行转移。

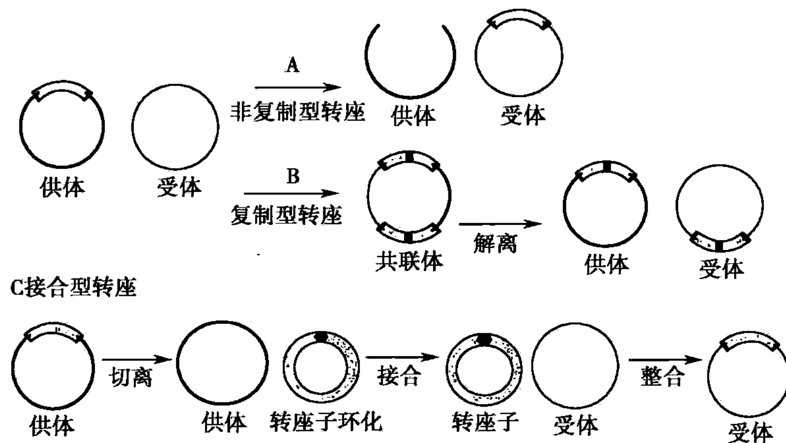


图2-6 转座机制的模式图

第三节 细菌基因的转移和重组

细菌的进化需要不断产生可遗传的基因型变异，指基因结构发生改变，包括突变（mutation）及基因转移（transfer）和重组（recombination）。但对每一个菌细胞来讲突变发生的几率还是很小的，自发突变率约为每一世代$10^{-10} \sim 10^{-6}$。如果细菌只有突变而没有菌细胞之间的基因转移，则难以迅速产生适应环境需要的基因组合。因此，细菌之间的DNA转移与重组可以在短期内产生不同基因型的个体，适应环境条件，接受自然界的选择，这是形成细菌遗传多样性的重要原因。供体菌（donor）DNA转移给受体菌（recipient）的过程称为基因转移或基因交换（genetic exchange）。成功的遗传重组（genetic recombination）则要求进入受体菌的外源DNA能够复制，导致其基因型发生改变成为重组体或重组菌（recombinant bacteria）。细菌基因转移和重组的方式有转化、接合、转导、溶原性转换和原生质体融合。

转化　受体菌直接摄取供体菌游离的DNA获得新的遗传性状的过程称为转化（transformation）。

1928年Griffith在研究肺炎链球菌时，首先发现细菌转化的现象。将有荚膜因而毒力强、菌落呈光滑型（S）的Ⅲ型肺炎链球菌注射至小鼠体内，小鼠死亡，从死亡小鼠心血中分离出Ⅲ型光滑型肺炎链球菌；将无荚膜、毒力减弱、菌落呈粗糙型（R）的Ⅱ型肺炎链球菌或经加热杀死的Ⅲ型光滑型肺炎链球菌分别注射小鼠，小鼠不死。但若将加热杀死的Ⅲ型光滑型肺炎链球菌（有荚膜）和活的Ⅱ型粗糙型肺炎链球菌（无荚膜）混合注射至小鼠体内，则小鼠死亡，并从死鼠心血中分离到Ⅲ型光滑型肺炎链球菌。1944年Avery等人用Ⅲ型光滑型肺炎链球菌的DNA代替加热杀死的Ⅲ型光滑型肺炎链球菌重复上述实验，得到相同的结果。终于证实引起Ⅱ型粗糙型肺炎链球菌转化的物质是Ⅲ型光滑型肺炎链球菌的DNA（图2-7）。

现在已经知道，在自然界中同样会发生细菌的转化。而且除了肺炎链球菌以外，在枯草芽胞杆

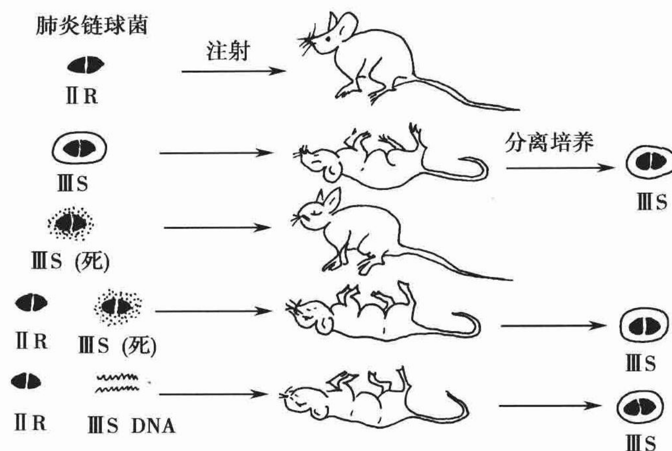


图2-7　小鼠体内肺炎链球菌的转化试验

菌、流感嗜血杆菌、嗜热脂肪芽胞杆菌等都能够发生转化作用。在这些天然发生的转化体系中，细菌一般都是进入一种称为感受态（competence）的特殊生理状态时，才能够捕获外源的转化DNA，感受态细胞结合的DNA数量比非感受态细胞多1000倍。处于感受态的细胞，有特殊蛋白在接受和加工DNA过程中起作用，包括一种与细胞膜相关的DNA结合蛋白、一种细胞壁自溶素和各种核酸酶。感受态的出现时期、持续时间因菌种而异，肺炎链球菌感受态出现在对数生长期的后期，持续约40分钟。除了上述细菌外，大多数细菌均不能自然摄取外源DNA。长期以来一直认为大肠埃希菌缺乏天然的转化机制，Mandel等（1970）首先报道在加入转化DNA之前，预先用氯化钙处理和温度休克（temperature shock）大肠埃希菌细胞，可诱导其呈现感受态。在转化中，感受态细胞首先可逆地结合DNA，很快这种结合就变为不可逆。转化DNA就可以依赖DNA结合蛋白吸附到细胞表面，若是G^-菌可将双链DNA片段摄入细胞，若是G^+菌则DNA片段的一条链被摄入而另一条链被核酸酶降解。进入细胞的DNA仍保持与感受态特异蛋白结合在一起，以便防止核酸酶的作用，直到到达染色体时由RecA蛋白接替，随后的重组过程都是将单链DNA整合进入受体菌的染色体（图2-8）；质粒的转化一般不会发生质粒与细菌染色体的重组过程，故其转化效率也较高。

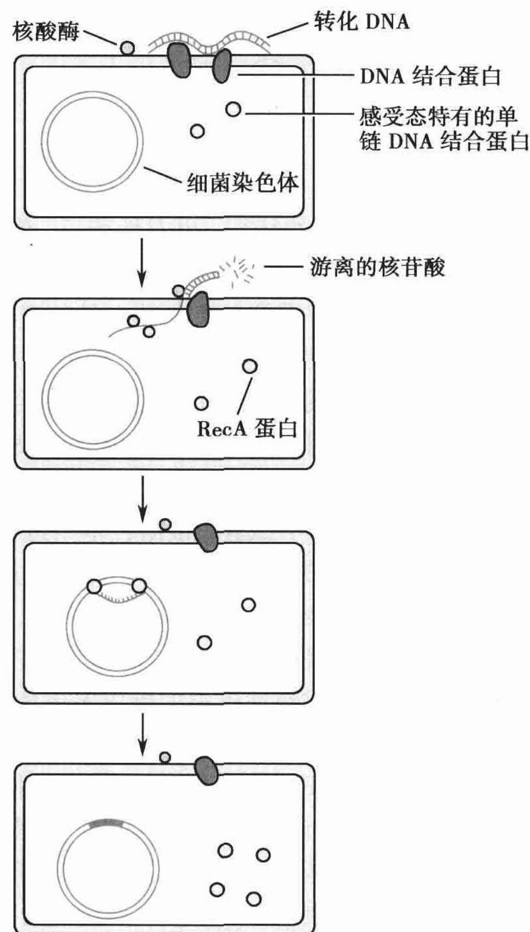


图2-8　革兰阳性菌转化过程

细菌转化效率以每1μg DNA出现的转化子菌落数表示，它受下列因素的影响：①受体细胞的感受态，这种生理状态决定转化DNA进入受体细胞；②转化DNA的构型、纯度和浓度，转化DNA必须是双链的；③受体菌的限制酶系统和其他核酸酶，它们决定转化DNA在整合前是否被分解；④转化的环境条件，诸如温度、pH值、离子浓度等。此外，近年来发展的电转化或称电穿孔技术（electroporation），用于一般转化方法不能成功的细菌，用电转化获得了成功。它在短时间（几微秒）高电压（1～2.5kV或更高）形成的强电场中，电击细菌的细胞壁发生变化，允许外源DNA进入受体细胞。电转化技术的转化效率随细菌的种类和所用DNA的种类不同而差异很大。对大肠埃希菌，电

转化的转化效率比一般转化方法高10～100倍，可达10^9～10^{10}/μg DNA的转化子。

接合　细菌通过性菌毛相互连接沟通，将遗传物质（质粒或染色体DNA）从供体菌转移给受体菌的过程称为接合（conjugation）。1946年由Lederberg 和Tatum首先在实验中发现了细菌的接合现象。

1. F质粒的接合　F质粒也称为性因子（sex factor），首先在大肠埃希菌中发现，单拷贝的接合性质粒，其分子质量为94kb。细菌的接合作用是一个相当复杂的过程，需要F质粒的25种转移基因编码产物的参与。这些基因聚集在长约33kb的转移区（transfer region）内。在宿主菌内，F质粒有三种不同的形式：F质粒以染色体外质粒DNA的形式存在，这种细菌称为雄性菌（F^+），其表面有F质粒编码的性菌毛，接合时作为供体菌；F质粒还可以整合到细菌的染色体上，有可能引发宿主染色体发生高频率转移，故称为高频重组菌株（Hfr），接合时也作为供体菌；无F质粒的为雌性菌（F^-），接合时作为受体菌。因此，F质粒的接合有两种形式，即$F^+ \times F^-$和$Hfr \times F^-$。

在合适的条件下，将F^+供体菌与F^-受体菌混合培养，由F质粒编码的性菌毛识别并与受体菌连接，性菌毛收缩使供体菌和受体菌紧密相连，形成配接对。其后F质粒的*tra*YZ基因产生的核酸内切酶在*ori*T位点做单链切割，产生的缺口链在其游离的5′端的引导下转移到受体菌，并作为模板合成互补链，形成新的质粒DNA分子。在供体菌内，也会发生质粒DNA按滚环复制模式合成互补链以取代已转移走的缺口单链。接合过程结束，两个菌细胞内均形成一双链F质粒，F^-变成F^+，也长出性菌毛（图2-9）。

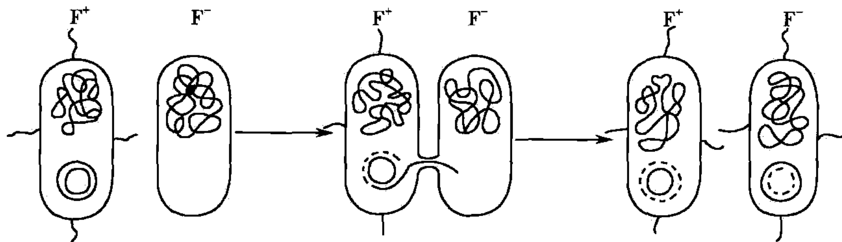


图2-9　接合时F质粒的转移与复制

Hfr菌具有F^+的特征，也有性菌毛，像F^+与F^-细菌一样进行接合。但是，Hfr菌与F^-菌接合时，F质粒已和Hfr细菌染色体整合为一个复制子，所以F质粒在接合时能带动染色体DNA进入受体菌，但其顺序取决于F质粒在染色体上的位置。首先是F质粒的起始位点*ori*T和小部分F质粒DNA先进入受体菌，然后是染色体DNA，最后才是剩下的大部分F质粒DNA的传递，整个过程约需100分钟。由于细菌间的接合桥并不稳定，接合作用可随时自发解离或受外界因素影响而中断，故在Hfr菌接合转移中，可以有不同长度的供体染色体片段进入受体菌进行重组，而受体菌获得完整F质粒DNA的机会极小。于是在$Hfr \times F^-$接合中，其结果受体菌往往仍然是F^-。Jacob应用上述间断配接（interrupted mating）试验，根据各基因进入受体菌的时间，绘制出大肠埃希菌染色体的基因排序图。F质粒在Hfr菌中的整合作用是一种可逆过程，有时也会脱离下来。从染色体上脱离下来的F质粒还会携带相邻的染色体基因或DNA片段，称为F′质粒。

2. R质粒的接合　1959年日本学者将具有多重耐药性的大肠埃希菌与药物敏感的志贺菌混合培养，发现多重耐药性可由大肠埃希菌传递给志贺菌，首次证明了R质粒的接合性传递，随后接合性耐药性质粒一直被人们所关注。R质粒（R100）由两部分构成，一是耐药性传递因子（resistance transfer factor，RTF），能编码性菌毛，使R100以接合方式传递；另一是耐药决定子（resistance determinant），赋予宿主菌对氯霉素、链霉素、四环素和磺胺的耐药性（图2-10）。一个耐药决定子可携带多个耐药基因或转座子，所以携带耐药质粒的细菌可同时对多种抗菌药物耐药称为多重耐药菌。接合性耐药质粒（R质粒）通过接合方式可以在同一种属细菌间或不同菌属间传递，这在革兰阴性菌中更为突出。同样，R质粒也可诱动非接合性耐药质粒传递。因此，细菌耐药性会迅速传播，

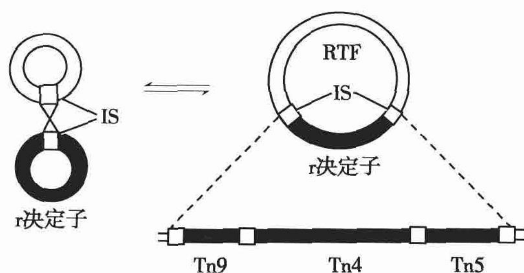


图2-10　R质粒结构模式图

使耐药菌株不断增加。

3. 诱动传递　非接合性质粒分子质量较小，不具接合传递所需要的基因，因而不能自我接合传递。但如果在宿主细胞内同时存在着接合性质粒，那么它们也可以被诱动传递（mobilization）。例如，非接合性大肠菌素质粒ColE1从供体菌被诱动传递给受体菌的过程，需要质粒自己编码的两种基因参与，一个是位于ColE1 DNA上的特异位点bom（有时也称nic位点）；另一个是ColE1质粒的*mob*基因，编码可以弥散的核酸酶。当可以相容的F质粒和ColE1共存在同一个菌细胞时，ColE1质粒的*mob*基因进行转录，其产物使bom位点发生单链断裂而出现缺口，于是ColE1的构型由超螺旋型转变为缺口开环型。F质粒编码性菌毛，为ColE1提供它所缺乏的接合功能（图2-11）。

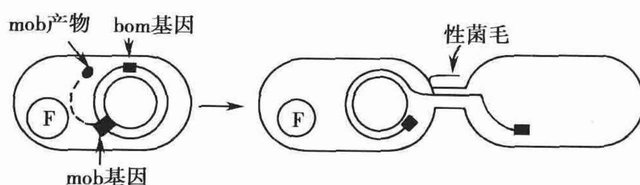


图2-11　非接合性质粒（colE1）被F质粒诱动传递示意图

转导　转导（transduction）是以噬菌体为媒介，将供体菌DNA片段转移到受体菌内，使受体菌获得新的遗传形状。转导在革兰阳性菌和革兰阴性菌中均可发生。根据转导DNA片段的范围，可分为普遍性转导和局限性转导。

1.普遍性转导（generalized transduction）　前噬菌体从溶原菌染色体上脱离，进行增殖，装配成新的子代噬菌体时，大约在10^5～10^7装配中发生一次错误，将供体菌DNA误装入噬菌体头部，当它感染受体菌时，则将供体菌DNA带入受体菌内。因供体菌染色体或质粒的任何DNA片段都有可能被转导，故称为普遍性转导。转导比转化所转移的DNA片段更大些，而且包装在噬菌体蛋白质外壳内，不被DNA酶降解，故比转化的频率高。

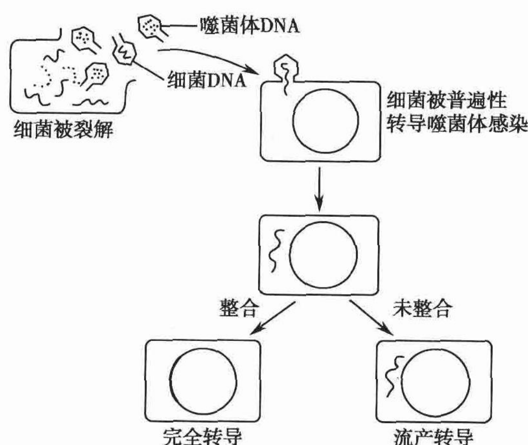


图2-12　普遍性转导模式图

转导过程包含着基因转移和基因重组。供体的DNA片段必须与受体菌的染色体重组，并同染色体一起复制成为稳定的转导子，称为完全转导。如果供体DNA片段不能重组到受体菌的染色体上，那么由于它本身不具有独立复制功能，随着细胞分裂，供体DNA片段只能沿着单个细胞传递下去，这种形式被称为流产转导（abortive transduction）（图2-12）。

普遍性转导是金黄色葡萄球菌中耐药性传递的主要方式，在其他细菌中则发生率较低。由于噬菌体有宿主特异性，故耐药性转导的现象仅能发生在同种细菌内。

2. 局限性转导（restricted transduction）　局限性转导噬菌体是溶原菌经诱导后，前噬菌体从宿主菌染色体切离时发生偏差交换而形成的。它只能将前噬菌体两旁邻近的基因转移到受体菌，使受体菌的遗传性状发生改变，称为局限性转导或特异性转导（specialized transduction）。例如，温和噬菌体λ感染大肠埃希菌，其整合和切离均通过细菌染色体和λ噬菌体DNA上特定位点之间

重组而实现，这些特定位点称为附着位点，简称att，位于染色体上半乳糖操纵子（gal）和生物素操纵子（bio）之间。所有λ噬菌体的附着位点都具有三个不同组分，其中O表示共同核心，噬菌体的附着位点写成POP′，细菌附着位点写成BOB′，在att处相互重组导致λ噬菌体DNA整合进宿主DNA(图2-13)。噬菌体溶原状态遭到破坏后，其切离反应发生在λ噬菌体DNA两端的BOP′和POB′，由此产生噬菌体环状DNA和细菌DNA。但切离时可能发生偏差，其几率为10^{-6}，与细菌染色体进行部分交换，形成带有gal或bio的缺陷噬菌体。这种缺陷噬菌体感染受体菌时可将供体菌DNA带入受体菌。

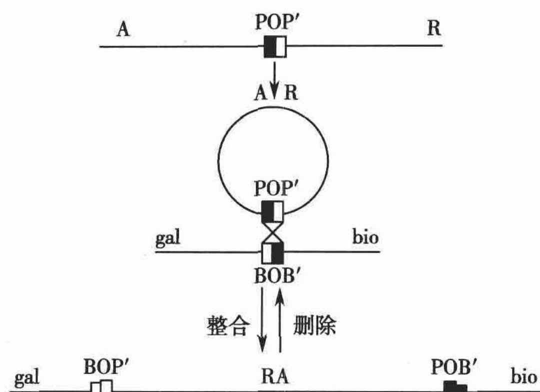


图2-13　局限性转导模式图

溶原性转换　溶原性细菌因染色体上整合有前噬菌体而获得新的遗传性状称为溶原性转换（lysogenic conversion）。溶原性转换可使某些细菌发生毒力变异或抗原性变异。例如，不产生毒素的白喉棒状杆菌被β-棒状杆菌噬菌体感染成为溶原性细菌时，便可产生白喉外毒素。现已证明β-棒状杆菌噬菌体携带编码白喉毒素的结构基因*tox*，但其表达受宿主菌生理代谢的影响和控制。白喉棒状杆菌可能合成一种无活性的阻遏蛋白，在铁离子影响下成为有活性的共阻遏物。它与噬菌体的tox操纵子基因结合，阻止*tox*基因的表达，因而在含有不同铁离子浓度的培养基中毒素产量相差悬殊。此外，A群链球菌产生红疹毒素，金黄色葡萄球菌产生α溶血素、δ溶血素、肠毒素A，肉素梭菌产生C型和D型肉毒毒素等，都是溶原性转换。沙门菌、志贺菌等抗原结构和血清型别也受溶原性噬菌体的控制，若失去前噬菌体则有关性状也会改变。

原生质体融合　原生质体融合（protoplast fusion）是分别将两种细菌经处理失去细胞壁悬于高渗培养基中保持原生质体状态，然后将两种细菌的原生质体混合，滴加聚乙二醇促使原生质体融合。融合后的双倍体细胞可以短期生存，在此期间染色体之间可以发生重组，获得多种不同表型的重组融合体。融合体经培养重新形成细胞壁，再按其遗传标志选择重组菌。原生质体融合技术可以使一些原来不具备基因转移条件的细菌实现基因的转移和重组，可用于同种或异种细菌之间，是一种有价值的实验方法。

第四节　细菌遗传变异在医学中的意义

在诊断、治疗和预防方面　细菌的变异可发生在形态结构、生化反应、抗原性和毒力等方面，造成性状不典型，常给细菌鉴定工作带来困难。例如，细菌失去细胞壁形成的L型细菌，用常规方法分离培养呈阴性，必须采用含血清的高渗培养基培养L型细菌。又如分解乳糖的基因转移到沙门菌，出现能够分解乳糖的伤寒沙门菌，按常规细菌鉴定容易忽视。要充分了解细菌的变异现象和规律，才能正确诊断细菌性感染疾病。

随着分子生物学技术的发展，快速诊断方法用于细菌的鉴定。例如，聚合酶链反应（PCR）方法选择性体外扩增DNA片段，简便、敏感、特异性好，是利用核酸作细菌分类鉴定方法中最适于细菌感染诊断的技术。PCR方法扩增细菌进化过程中保守、稳定、具有种特异性的片段，可用于不易培养或生长缓慢细菌的鉴定，如结核分枝杆菌、嗜肺军团菌等。

细菌的耐药性变异是临床细菌性感染面临的重要问题之一，对临床分离菌株进行耐药性监测，注意耐药谱的变化和耐药机制的研究，将有利于指导正确地选择抗菌药物和防止耐药菌株的扩散。

细菌遗传变异的研究对传染病的预防也具有重要的意义。以毒力减弱而保留免疫原性的菌株制成减毒活疫苗，已成功地用于某些传染病的预防。早在人们对细菌的遗传和变异的理论尚未了解

的年代，巴斯德就已将42℃高温下培养，毒力减弱的炭疽芽胞杆菌制成活疫苗用于炭疽病的预防。卡介苗（BCG）用于结核病的预防已经延续了半个多世纪。此外，布鲁菌和鼠疫耶尔森菌的减毒活疫苗均有效地用于布鲁菌感染和鼠疫的预防。

在检测致癌物质方面　细菌的基因突变可由诱变剂引起。凡能诱导细菌突变的物质也可能诱发人体细胞的突变，这些物质有可能是致癌物质。Ames试验就是根据细菌的致突变试验检测致癌物质的原理设计的。采用鼠伤寒沙门菌组氨酸营养缺陷型(his^-),在组氨酸缺乏的培养基上不能生长。但如发生回复突变成为his^+，则能够生长。计数培养基上的菌落数，比较有待检物诱导的试验平板与无诱导物诱导的对照平板，凡能提高突变率，诱导菌落生长较多者，即有致癌的可能性。

在流行病学方面　将分子生物学的方法应用于分子流行病学的调查，从分子水平追踪传染的来源与传播的规律，有其独特的优点。基于核酸的分析方法，如质粒谱分析、核型分析、脉冲场凝胶电泳（PFGE）分析、PCR扩增、随机引物PCR、PCR-限制性片段多态性（RFLP）分析、核酸序列分析等，已广泛用于确定某一感染暴发中流行菌株或相关基因的来源，或调查医院内耐药性质粒在不同细菌中的播散情况，有利于制定合理的防控措施。

在分子生物学研究方面　微生物遗传学是从研究细菌开始的，由此发展了分子生物学和分子遗传学的理论,并逐渐成为独立的新兴学科。在分子生物学研究中使用的许多工具酶（限制性内切酶、连接酶、聚合酶、Taq酶等）、载体、转座子、DNA重组方法（如转化、接合、转导）和基因功能定位的方法都是细菌遗传和变异研究重大发现的延伸。随着“人类基因组计划”和“微生物基因组计划”的实施与完成，对人类重大疾病（肿瘤、代谢病、传染病等）研究的突破，将会成为医学发展史上新的里程碑。

在基因工程方面　基因工程是20世纪70年代以来在分子遗传学基础上发展起来的一门生物技术。它包括从复杂的生物体基因组中分离出带有目的基因的DNA片段；将其连接到能够自我复制的质粒、噬菌体或其他载体分子上，形成重组DNA分子；然后将重组DNA分子转移到受体菌（或其他宿主细胞）并进行筛选；使之实现功能表达，产生人类所需要的物质。这种技术意义相当重大，解决了一些天然合成或分离纯化十分困难且成本昂贵药物的生产，而在大肠埃希菌或其他生物体内得到有效的表达，例如重组胰岛素、干扰素、生长激素等的生产。此外，还用基因工程方法生产有效的新型疫苗，如乙型肝炎病毒表面抗原疫苗，为传染病的预防开辟了新途径。

展　望

微生物遗传学的研究是从研究细菌开始的，并由此发展了分子遗传学、分子生物学、基因工程等理论，细菌具有生长速度快，便于取得基因型相同的大量细胞和突变型等优点，使其一直处于遗传学研究和发展的热点。

近年来令人瞩目的是微生物基因组计划（MGP）的实施,这与人类基因组计划（HGP）密不可分。HGP前五年中就提议对两种模式微生物大肠埃希菌和酿酒酵母进行测序。美国威斯康星大学麦迪逊分校Blattner教授在构建大肠埃希菌 λ 噬菌体克隆的基础上，1990 ~ 1995年人工测定了基因组中1.92 Mb序列。然而，基因组计划伴随着科学技术的不断创新，美国基因组研究所（TIGR）利用随机鸟枪法第一次进行了流感嗜血杆菌Rd株的全基因组测序尝试获得成功，4个月就完成了随机克隆文库的测序，1年的时间完成全基因组的测序和注释工作（Science，1995），这就是“后来者居上”的微生物基因组计划的里程碑。新策略使Blattner教授放弃噬菌体克隆，改用鸟枪法由自动测序仪完成剩余基因组的测序，1997年在Science上发表了*E.coli* k12 MG1655的全基因组序列。全基因组鸟枪－装配法的突破,将基因组学研究带入了一个新时期。目前已完成889株细菌的基因组测序（不包括古生菌），还有2 755株细菌基因组测序正在进行中。MGP已经从需要整个实验室或团队参与，耗时长达几年至十几年的庞大工程，如今研究生都能掌握，只需几个星期至几个月采用基因组测序

相关仪器设备即可完成。展望未来，MGP的挑战已摆在我们面前，基因组的结构、进化和功能的研究任务极其繁重。比较有毒株和无毒株基因组差异，寻找致病基因；比较不同致病基因或致病岛的异同，明确致病机制的规律；应用基因克隆、基因敲除、位点特异性突变等方法观察其表型变化，确定基因功能；比较原核生物之间及原核和真核生物之间序列的相似性，了解基因转移的可能性和生物进化关系，绘制种系发育树，丰富细菌分类学的理论。因此，当前微生物基因组和功能基因组的研究，可以从分子水平上了解细菌致病性和耐药性产生的机制，阐明细菌致病过程中出现的细胞内信号转导及其基因转录调控的机制，为感染性疾病的诊断和防治寻找新的策略，也为微生物资源开发奠定基础，具有重要的理论意义和实际应用价值。

另一方面，细菌遗传学研究的理论和方法对高等生物的研究提供有益的借鉴，人类基因组计划的完成也得益于细菌遗传学的发展。当今开展的人类重大疾病（肿瘤、代谢病、感染性疾病等的研究）都离不开细菌遗传学的基础，诸如基因治疗、RNA干扰、干细胞和基因工程等研究都需要源自细菌的表达系统和操作技术。

21世纪是生命科学和生物技术竞显龙头地位的年代，其中细菌遗传学占有重要的一席之地，仍然成为研究的热点。

（陈锦英）

第三章　细菌的耐药性

抗菌药物（antibacterial agents）系指具有杀菌和抑菌活性、供全身应用的各种抗生素和化学合成的药物。其中，抗生素（antibiotics）专指对特异微生物有杀灭和抑制作用的微生物产物；后来将化学合成的仿制品及抗生素的半合成衍生物也统称为抗生素。显然，抗菌药物的含义更广一些。

自1935年磺胺药作为最早发现的化学药物首次用于临床，1940年青霉素作为第一个抗生素问世以来，各类新的抗菌药物层出不穷，使许多威胁生命的感染性疾病有了特效的治疗，相继也出现了细菌的耐药性问题，日趋严重，波及全球。细菌耐药性的研究是合理应用抗菌药物、克服细菌耐药性和新药开发的基础。它将涉及基础医学、临床医学、药政管理及抗菌药物的研制等诸多方面，具有重要的理论意义和应用价值。

第一节　抗菌药物的种类及其作用机制

一、抗菌药物的种类

抗菌药物的分类方法很多，习惯上常按其化学结构和性质进行分类，兹介绍如下。

β-内酰胺类（β-lactams）　所有β-内酰胺抗生素的化学结构中都含有β-内酰胺环，是这类抗生素的抗菌活性必不可少的结构。β-内酰胺抗生素包括的种类较多，其侧链的改变形成许多不同抗菌谱及各种临床药理学特性的抗生素。

1. 青霉素类　包括青霉素G，具有耐酸、口服吸收良好特性的苯氧青霉素，耐酶青霉素（甲氧西林、苯唑西林），广谱青霉素（氨苄西林、阿莫西林、替卡西林等）。

2. 头孢菌素类　根据抗菌谱和对革兰阴性杆菌抗菌活性不同，头孢菌素可以按“代”进行分类。第一代主要用于产青霉素酶的金黄色葡萄球菌和某些革兰阴性菌的感染，如头孢唑啉、头孢拉定、头孢氨苄等。第二代对革兰阴性菌的作用较第一代增强，如头孢孟多、头孢呋辛等。第三代对多种β-内酰胺酶稳定，对革兰阴性菌和铜绿假单胞菌有良好的作用，如头孢噻肟、头孢三嗪、头孢他啶、头孢哌酮等。第四代增强了对三代头孢菌素耐药的肠杆菌和枸橼酸杆菌等的抗菌活性，如头孢匹罗。

3. 头霉素类　如头孢西丁（也称头霉甲氧噻吩）。

4. 单环β-内酰胺类　如氨曲南、卡卢莫南。

5. 碳青霉烯类　如亚胺培南（也称亚胺硫霉素）。亚胺培南与西司他丁合用称为泰能。

6. β-内酰胺酶抑制剂　如克拉维酸（也称棒酸）、青霉烷砜（也称舒巴坦），它们具有弱的抗菌活性，能与β-内酰胺酶发生不可逆的反应后使酶失活。

大环内酯类（macrolides）　包括红霉素、螺旋霉素、交沙霉素、罗红霉素、阿齐霉素等。

氨基糖苷类（aminoglycosides）　包括链霉素、庆大霉素、卡那霉素、妥布霉素、阿米卡星等。

四环素类（tetracyclines）　包括四环素、多西环素（也称强力霉素）、米诺环素等。

氯霉素类（chloramphenicol）　包括氯霉素、甲砜霉素。

多肽类和糖肽类　包括多粘菌素、杆菌肽、万古霉素。

化学合成的抗菌药物　主要有磺胺类和喹诺酮类（fluorquinolones）。前者有磺胺嘧啶（SD）、

磺胺甲噁唑（SMZ）、甲氧苄啶（TMP），复方新诺明（SMZco）等。喹诺酮类包括吡哌酸、诺氟沙星、环丙沙星、氧氟沙星、依诺沙星、培氟沙星、洛美沙星等。

其他 抗结核药物包括利福平、异烟肼、乙胺丁醇、吡嗪酰胺等。林可霉素和克林霉素等。

二、抗菌药物的作用机制

抗菌药物必须对病原菌具有较强的选择性毒性作用，对患者不造成损害。根据对病原菌作用的特殊靶位不同，将抗菌药物的作用机制分为四类（图3-1）。对抗菌药物机制的了解，是临床合理选用抗菌药物和细菌耐药性研究的基础。

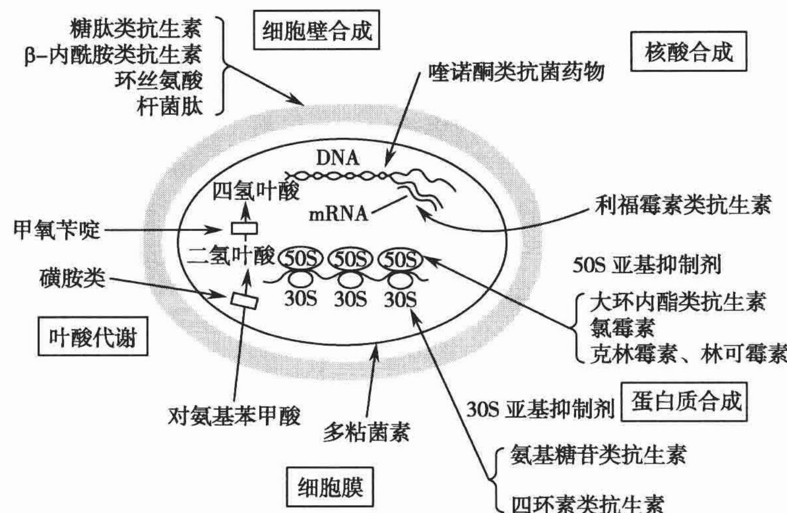


图3-1 抗菌药物作用靶位示意图

抑制细菌细胞壁的合成 细菌（除支原体外）具有哺乳动物所没有的细胞壁，革兰阳性和革兰阴性细菌细胞壁的组成不尽相同，其共有组分为肽聚糖，肽聚糖的生物合成是一个复杂的过程。β-内酰胺类抗生素与细菌细胞膜上的靶位青霉素结合蛋白（PBPs）结合，抑制肽聚糖合成过程中的转肽反应。细菌细胞膜上有3～6种PBPs，其中有些是转肽酶，参与细胞壁肽聚糖的合成。由于结构的相似性，β-内酰胺类抗生素与细菌竞争合成肽聚糖过程中所需要的转肽酶，抑制四肽侧链与五肽交联桥或二氨基庚二酸（DAP）之间的连接，阻断肽聚糖的合成，使细菌无法形成坚韧的细胞壁；继而清除或灭活细胞壁上的自溶酶（autolytic enzyme）抑制剂，导致自溶酶激活，使细菌在相对低渗环境中变形、裂解而死亡。

环丝氨酸通过抑制丙氨酸消旋酶，使L-丙氨酸不能转变成D-丙氨酸，影响肽聚糖的合成。糖肽类抗生素（万古霉素）可特异性地抑制肽聚糖聚合酶，抑制肽链交联，干扰细胞壁的合成。

影响细胞膜的功能 多粘菌素的分子有两极性，亲水性端与细胞膜的蛋白质部分结合，亲脂性端与细胞膜内磷脂相结合，使细胞膜裂开，导致细胞内成分外漏，细菌死亡。

抑制蛋白质的合成 细菌核糖体由50S和30S亚基组成，许多抗生素能干扰细菌核糖体的功能，抑制蛋白质合成，导致细菌死亡。但作用部位及作用时段不完全相同。氨基糖苷类及四环素类主要作用于30S亚基，大环内酯类、氯霉素和林可霉素类则主要作用于50S亚基，导致细菌蛋白质合成受阻。

抑制核酸的合成 利福平可与依赖于DNA的RNA多聚酶结合，从而抑制mRNA的转录。喹诺酮类药物主要作用于细菌DNA复制过程中的DNA旋转酶（gyrase）而抑制细菌繁殖。磺胺类药物与对氨基苯甲酸（PABA）的化学结构相似，两者竞争二氢叶酸合成酶，使二氢叶酸合成减少；或磺胺药代替PABA后形成无效化合物，影响核酸的合成，抑制细菌生长繁殖。甲氧苄啶（TMP）

与二氢叶酸分子中的蝶啶相似，能竞争抑制二氢叶酸还原酶，使四氢叶酸的生成受到抑制。因此，TMP与磺胺药合用（如复方新诺明）有协同作用。

第二节　细菌的耐药机制

一、细菌耐药性的来源

细菌耐药性的来源分为非遗传性来源（nongenetic origin）和遗传性来源（genetic origin）。

非遗传性来源的耐药性　指细菌有耐药性的表现型，但遗传结构没有改变。①许多抗菌药物需要细菌处于快速生长繁殖状态才能发挥作用。如果细菌处于代谢不活跃或不繁殖状态，则对抗菌药物耐药，但其子代可以恢复为药物敏感表现型。例如，结核分枝杆菌进入机体后，受免疫功能的影响并不繁殖。这种存活的细菌对抗结核药物耐药，不能被清除。一旦细胞免疫功能下降，存活在机体内的结核分枝杆菌开始繁殖，对同样的治疗药物完全敏感。②细菌丢失特异性药物靶位结构，表现出耐药性。例如，在青霉素治疗期间，敏感菌变为“L型”，对抑制细胞壁合成的药物耐药，一旦恢复为有细胞壁的细菌后，仍然对青霉素敏感。③当细菌感染机体内抗菌药物不能发挥作用的部位，也表现出耐药性。例如，沙门菌体外试验对氨基糖苷类抗生素（庆大霉素）敏感，但治疗沙门菌肠热症无效。因为沙门菌是胞内菌，氨基糖苷类药物不能进入细胞内。同样，嗜肺军团菌感染的治疗也要选择能够进入细胞内的药物。

遗传性来源的耐药性　从遗传学的角度，可分为固有耐药性（intrinsic resistance）和获得耐药性（acquired resistance）。前者指细菌对某些抗菌药物的天然不敏感，故也称为天然耐药性；后者指细菌的遗传结构发生了改变。

1. 固有耐药性　细菌对某种抗菌药物的固有耐药性是始终如一的，是细菌的种属特性所决定的。抗菌药物对细菌能够起作用首要的条件是细菌必须具有药物的靶位。例如，两性霉素B能够与真菌细胞膜的固醇类结合，改变其通透性，而起到抗真菌的作用。细菌细胞膜缺乏固醇类，故对两性霉素B属于固有耐药性。同样，革兰阴性菌具有外膜渗透性屏障，决定了这类细菌对多种药物不敏感。固有耐药性是可以推测可知的。

2. 获得耐药性　正常情况下对药物敏感的细菌群体中出现了对抗菌药物的耐药性是获得耐药性与固有耐药性的重要区别。影响获得耐药性发生率的三个因素：药物使用的剂量、细菌耐药的自发突变率和可传递耐药性的优劣地位。

（1）染色体突变（chromosomal mutation）：指控制抗菌药物敏感性的位点发生自发突变，赋予细菌的耐药性。突变的频率与抗菌药物的使用无关，但药物存在形成的选择性压力则有利于耐药突变株的存活，最终成为优势群体。染色体自发的突变率很低（10^{-12}～10^{-7}），但对利福平耐药的突变率较高（10^{-7}～10^{-5}），所以临床上单独用利福平治疗结核常常失败。故治疗结核采用联合用药，每种药物都可以杀死对其他药物耐药的突变株。

链霉素的作用靶位是细菌核糖体30S亚基上的P12蛋白，当细菌染色体上的*str*基因突变后，P12蛋白的构型发生改变，使药物不能与其结合产生了耐药性。

（2）可传递的耐药性（transferable antibiotic resistance）：耐药性质粒携带一种或多种抗药性基因，广泛存在于革兰阳性和革兰阴性细菌中，几乎所有致病菌均可有耐药性质粒。它们在同属不同种或不同属的细菌之间可以通过接合、转导和转化的方式进行传递。环境中抗生素形成的选择性压力有利于耐药性质粒的播散和耐药菌株的存活。R质粒在肠道菌中更为常见，推测其演变过程可能是耐药传递因子（RTF）与耐药性基因或非接合性耐药质粒结合形成多重耐药的接合性质粒。转座子的参与加速了R质粒的进化过程。由多重耐药菌株所致的感染给临床治疗带来极大的困难。

20世纪80年代末发现了与耐药性的获得和传播相关的移动性DNA分子，称为整合子（integron）。它是捕获外源基因并使之转变为功能性基因的表达单位， 定位于染色体、转座子或质粒上，并可

在其间移动。整合子由3个部分组成（图3-2）：5′保守末端、3′保守末端和两者之间的可变区。5′保守末端由编码整合酶的基因（integrase，int I）、基因重组位点（att I）、启动子（pint，pant）组成；可变区由一个或多个可表达耐药性的基因盒（gene cassette）组成。整合酶可以催化基因盒在att I和基因盒重组位点att C之间的整合和剪切。一个整合子捕获多个基因盒，组成多重耐药整合子。携带重组基因盒的整合子在不同菌属的细菌中传播耐药性。

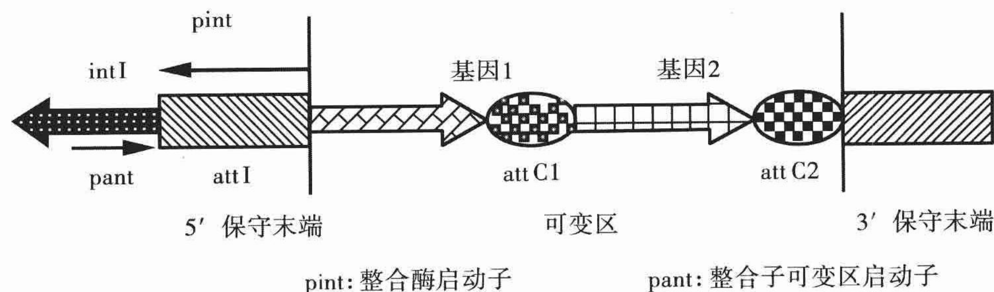


图3-2 整合子结构图

二、细菌耐药性的生化机制

细菌对于药物产生抗性的生化机制是染色体或质粒上耐药基因的表达过程，可以通过产生钝化酶、改变药物的作用靶位、改变细胞壁的屏障功能或主动外排机制来实现。

钝化酶的产生 耐药菌株通过合成某种钝化酶（modified enzyme）作用于抗菌药物，使其失去抗菌活性。重要的钝化酶有以下几种：

1. β-内酰胺酶（β-lactamase） 对青霉素类和头孢菌素类耐药的菌株产生β-内酰胺酶，可以特异性的打开药物分子结构中的β-内酰胺环，使其完全失去抗菌活性，也称其为灭活酶（inactivated enzyme）。根据水解底物的不同，可将β-内酰胺酶分别称为青霉素酶（penicillinase）和头孢菌素酶（cephalosporinase）。一般来讲，革兰阳性菌的β-内酰胺酶为胞外酶，革兰阴性菌的β-内酰胺酶位于周浆间隙内。β-内酰胺酶可以是细菌染色体编码，也可以是质粒编码。最常用的β-内酰胺酶分类有两种方法，即Ambler分子分类法和Bush-Jacoby-Medeiros功能分类法（简称Bush法）。前者基于氨基酸的相似性，分为A～D型，后者基于底物谱和抑制物谱，分为Ⅰ～Ⅳ型和若干亚型（表3-1）。

表3-1 β-内酰胺酶的分类

功能分类（Bush法）	分子分类（Ambler法）	名称	来源
Ⅰ	C	AmpC酶	染色体、质粒
Ⅱa	A	青霉素酶	质粒
Ⅱb	A	广谱酶	质粒
Ⅱbe	A	超广谱酶（ESBLs）	质粒
Ⅱbr	A	耐酶抑制剂广谱酶	质粒
Ⅱc	A	羧苄青霉素酶	质粒
Ⅱd	D	邻氯青霉素酶	质粒
Ⅱe	A	头孢菌素酶	染色体
Ⅱf	A	非金属碳青霉烯酶	染色体
Ⅲ	B	金属酶	染色体
Ⅳ	?	青霉素酶	染色体

当前，在革兰阴性杆菌中，对β-内酰胺类抗生素的耐药性主要由两种β-内酰胺酶介导，即超广谱β-内酰胺酶（extended spectrum β-lactamases，ESBLs）和AmpC β-内酰胺酶。ESBLs是肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、肠杆菌中质粒介导的Ⅱb型β-内酰胺酶（TEM-1、TEM-2、SHV-1）的突变体，扩大了原来的底物谱，可以水解青霉素类和一、二、三代头孢菌素及单环类抗生素（氨曲南），对β-内酰胺酶抑制剂（克拉维酸）敏感，属于Bush分类法中的Ⅱbe型和Ⅱd型酶。至今已发现ESBLs 有200余种，广泛分布于肠杆菌科、铜绿假单胞菌、不动杆菌等细菌中，世界各地均有报道。ESBLs分为5个型，即TEM 型、SHV型、 OXA型 、CTX-M型和其他型，以前两型最为多见。 AmpC β-内酰胺酶属于I型酶，由染色体上amp操纵子控制，为诱导酶，平时表达量很低。一旦AmpC的调节基因发生去阻遏突变，使宿主菌变成持续高产AmpC酶的去阻遏突变株。近年来已发现AmpC型β-内酰胺酶基因位于可传递的质粒上，其特点不是通过诱导机制产酶，而是持续高产酶，与质粒上其他耐药基因组合在一起形成多重耐药菌株，导致耐药性传播。

2. 氨基糖苷类钝化酶（aminoglycoside-modified enzymes）　对氨基糖苷类药物质粒介导的耐药机制是通过对该类抗生素结构中的羟基磷酸化（磷酸转移酶，aminoglycoside phosphotransferase，APH）、氨基乙酰化（乙酰转移酶，aminoglycoside acetyl transferase，AAC）或羟基腺苷酰化（腺苷转移酶，aminoglycoside adenyl transferase，AAD）的作用，而使这类药物的分子结构发生改变，失去抗菌作用。根据药物的种类不同和作用基团的部位不同，每类钝化酶又可分为许多种。一种氨基糖苷类抗生素可被多种钝化酶所作用，同一种酶又可作用于几种结构相似的药物。由于氨基糖苷类抗生素结构相似，故常出现明显的交叉耐药现象。

3. 氯霉素乙酰转移酶（chloramphenicol acetyl transferase，CAT）　该酶由质粒编码，使氯霉素乙酰化而失去抗菌活性。

药物作用靶位的改变　红霉素的作用靶位是红霉核糖体上50S亚基的L4和L12蛋白，当染色体上的*ery*基因突变使该蛋白改变，便影响与红霉素的结合而出现耐药性。金黄色葡萄球菌携带的耐药性质粒编码产生一种甲基化酶，可使50S亚基中的23S rRNA上的嘌呤甲基化，从而产生对红霉素的耐药性。有的细菌可使靶位酶发生改变，使其不易为抗菌药物所作用，如细菌可改变其体内的二氢叶酸合成酶,使该酶与磺胺药的亲和力大为降低而引起对磺胺药耐药。细菌还可以“复制靶位”而获得对某些抗菌药物的耐药性，例如青霉素结合蛋白（PBPs）具有酶活性，参与细胞壁的合成，是β-内酰胺类抗生素的作用靶位，细菌能够改变PBPs的结构或产生一种新的低亲和力的PBP，导致耐药。这种PBPs介导的耐药性在肺炎链球菌、淋病奈瑟菌、葡萄球菌等中均有报道，其中最常见的是耐甲氧西林金黄色葡萄球菌（methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*，MRSA）。MRSA菌株有一种新的PBP称为PBP2′或PBP2a，由染色体*mec*A基因编码，具有转肽酶和转糖基酶活性。PBP2a与β-内酰胺抗生素的亲和力低，在高浓度抗生素存在时，正常PBPs失活，此时PBP2a可代替正常的PBPs来行使功能，参与细胞壁肽聚糖的合成，从而使细菌表现出对β-内酰胺类抗生素的耐药性。

DNA旋转酶是喹诺酮类药物作用的靶位。细菌的DNA旋转酶是一种Ⅱ型拓扑异构酶，由2个A亚基和2个B亚基组成四聚体，分别由基因*gyr*A和*gyr*B编码。大肠埃希菌*gyr*A基因发生突变引起酶结构的改变，阻止喹诺酮类药物进入靶位，导致对喹诺酮类所有药物的交叉耐药。

外膜渗透性的改变和主动外排机制　外膜渗透性（permeability）下降或主动外排（efflux pump）作用均使菌体内的药物浓度不足,难以发挥抗菌作用,是细菌对一些结构互不相同的药物（如β-内酰胺抗生素、喹诺酮类药物、氯霉素、四环素等）产生多重耐药性的重要机制。

革兰阴性菌细胞壁外膜的改变，损伤其主动运输功能，使药物不能进入菌细胞内达到有效的浓度。细菌的突变可以造成外膜上孔蛋白（porin）的丢失或降低其表达均会影响药物从细胞外向细胞内的运输。铜绿假单胞菌对抗生素的渗透性比其他革兰阴性菌低，是该菌对多种抗生素固有耐药的主要原因之一。

细菌外膜的主动外排系统由外排转运蛋白、外膜通道蛋白和连接蛋白（或辅助蛋白）组成。外排转运蛋白捕获抗生素，在连接蛋白的辅助下，从外膜通道蛋白将抗生素排至菌体外。细菌的主动外排系统需要能量，来自ATP水解或质子驱动力，并据此对主动外排系统进行分类。MexAB-OprM是在铜绿假单胞菌野生株中表达的外排系统，进一步研究发现MexA、MexB或OprM的缺失均可增强宿主菌对多种抗菌药物（四环素、氯霉素、利福平，氟喹诺酮类、β-内酰胺类等）的敏感性。

生物被膜的耐药机制　细菌附着在无生命的物体或机体黏膜组织表面后，由细菌及其所分泌的胞外多聚物（主要是胞外多糖）共同组成的蘑菇样的膜状细菌群体结构，称为生物被膜。由生物被膜细菌形成的耐药性是引起感染难以治疗的原因之一。体外试验证明，同一株肺炎克雷伯菌对氨苄西林的最低抑菌浓度值，浮游状态菌为2mg/L，生物被膜状态菌为5000mg/L，相差2500倍。目前对生物被膜的耐药机制不完全清楚，有以下几种解释：①BF形成了渗透性屏障，阻止抗生素的渗入，不能达到有效的药物浓度；②BF内营养供给受限制，细菌生长缓慢，导致对某些抗生素（β-内酰胺类）不敏感；③BF的内环境有利于细菌之间耐药基因传递和信息交换，细菌表达的β-内酰胺酶破坏进入的抗生素；④BF表层的细菌率先被抗生素杀死，深层存留的细菌（persister）一旦停止治疗仍然会迅速繁殖。

第三节　细菌耐药性的防治

合理使用抗菌药物　教育医务工作者和患者要遵守规范化用药。患者用药前应尽可能进行病原学检测，并进行药敏试验，作为调整用药的参考。用药疗程应尽量缩短，一种抗菌药物可以控制的感染则不任意采用多种药物联合。严格掌握抗菌药物的局部应用、预防应用和联合用药的适应证，避免滥用。制定抗生素用药常规，作为临床选择药物的参考。

严格执行消毒隔离制度　对耐药菌感染的患者应予隔离，防止耐药菌的交叉感染。医务人员应定期检查带菌情况，以免医院内感染的传播。特别是在整合子上已经发现有消毒剂抗性的基因，密切关注细菌耐药性和消毒剂抗性联合传播的发展动向。

加强药政管理　①加强细菌耐药性的监测，积极参加全球耐药性监测网。掌握本地区重要致病菌对抗菌药物耐药性变迁的趋势，及时为临床提供信息；②制定抗菌药物凭处方供应的规定，并监督执行；③农牧业应尽量避免使用供临床应用的抗菌药物作为动物生长促进剂或用于牲畜的治疗，加强对于食品类残留抗生素的监测；④细菌耐药性一旦产生后，停用有关药物一段时间后敏感性有可能逐步恢复，有计划地将抗菌药物轮流交替使用。

新抗菌药物和质粒消除剂的研制　根据细菌耐药性的机制及其与抗菌药物结构的关系，寻找和研制具有抗菌活性，尤其对耐药菌有活性的新抗菌药物；同时针对耐药菌产生的钝化酶，寻找有效的酶抑制剂。耐药性质粒在细菌耐药性的产生和传播方面占有重要的地位，筛选可用于人体的质粒消除剂或防止耐药性转移的药物。

展　　望

实践证明，细菌耐药性的研究和抗菌药物的开发在感染性疾病的治疗和控制中是一个永恒的课题。随着细菌结构、生理代谢、生物化学、遗传学、药理学、分子生物学和生物信息学等多个领域的发展，细菌耐药性的研究取得了丰硕的成果。但不可忽视。新的问题会接踵而来。

从分子水平研究细菌的耐药机制，是抗生素改造和新药开发的依据。革兰阴性菌质粒介导的磷酸转移酶APH3′或APH4′，对卡那霉素3′或4′位的羟基进行修饰，导致对卡那霉素的耐药性。由于氨基糖苷类抗生素有着共同的母核结构，删去卡那霉素3′位的羟基即3-脱氧卡那霉素（妥布霉素），删去3′和4′位的羟基即庆大霉素，在1位引入丁胺基即阿米卡星（丁胺卡那霉素）则

对3′和4′位的羟基有保护作用，于是使氨基糖苷类钝化酶APH3′或APH4′失去“用武之地”。经过改造后的三种抗生素成功地用于APH3′或APH4′产生菌感染的治疗。酶学特性的研究表明，ESBLs对β-内酰胺酶抑制剂敏感，据此开发了三代头孢菌素和克拉维酸的复合制剂。AmpC酶对β-内酰胺酶抑制剂不敏感，研发了对该酶稳定的四代头孢菌素用于临床。列文虎克发明显微镜首先看到了细菌生物被膜，但真正对它的认识现在才刚刚开始，如何应对涉及临床60%以上感染的细菌生物被膜的治疗又给人类提出新的挑战。

基因组水平对细菌耐药机制的研究，进一步阐明其基因表达调控规律。MRSA耐药机制的研究，从发现PBP2a开始，到目前已明确金黄色葡萄球菌染色体上的SCCmec基因盒控制着MRSA的抗性，并进一步对其分型用于耐药性的分子流行病学调查。近20年对整合子的研究，依据整合酶的序列进行分型，目前对移动性整合子了解较多，它们与耐药性关系密切，但对染色体整合子还知之甚少。

综上所述，我们应清楚地认识到细菌耐药性领域尚有众多未解决的难题，耐药基因的调控要比经典的“乳糖操纵子”复杂得多，例如革兰阴性菌染色体上多重耐药（multiple antibiotic resistance，mar）操纵子就涉及多种耐药机制和基因表达的远程调控。细菌耐药性研究任重而道远，出现了多个分支和领域，相信微生物基因组计划的实施将会大大地促进细菌耐药性研究的进程。

（*龙北国　陈锦英*）

第四章　细菌的感染与免疫

细菌侵入宿主后，进行生长繁殖，释放毒性物质等，引起不同程度的病理损伤的过程，称为感染（infection）。能使正常宿主致病的细菌称为致病菌或病原菌（pathogenic bacterium，pathogen）。不能造成宿主致病的细菌称为非致病菌或非病原菌（nonpathogenic bacterium，nonpathogen），它们可能是宿主正常菌群的组成部分。有些细菌在正常情况下并不致病，但在某些特殊条件下，如宿主免疫防御机制受到损害时可以致病，称为机会致病菌（opportunistic pathogen）或条件致病菌（conditioned pathogen）。

致病菌入侵后，在建立感染的同时，能激发宿主免疫系统产生一系列免疫应答。其结局根据致病菌的致病力与宿主免疫力的强弱而定，可以表现为以下几种形式：不形成感染；感染形成但逐渐消退，患者康复；感染扩散，患者死亡；宿主亦有可能成为带菌者。

Pathogenicity is the ability of a microorganism to cause infection and disease in a host. Based on this concept, bacteria can be classified into three major groups: true pathogens, opportunistic pathogens and nonpathogens. Pathogens are capable of causing infections and diseases in healthy persons with normal immune defenses. Opportunistic pathogens become infectious when the host defenses are compromised or when they become established in a part of the body that is not natural to them. Nonpathogens do not cause diseases and may be a part of the normal flora of the host. The term normal flora denotes the population of microorganisms that inhabit the skin and mucous membrane of healthy normal hosts. They actually contribute to the host defenses by competing with and warding off potentially invasive pathogens.

Virulence is the degree of pathogenicity, which is affected by numerous variables such as the number of infecting bacteria, route of entry into the body, virulence factors of the bacterium, and nonspecific or specific host defense mechanisms.

In order for a pathogen to cause disease, it must gain access to the host, adhere to and invade host cells and tissues, resist or evade the host defenses, multiply and damage host tissues. Bacteria enter the human body primarily via skin, respiratory tracts, gastrointestinal tracts, urogenital tracts or wounds. The source of the infectious agent may be exogenous (acquired from environment, animal sources or from other patients or carriers) or endogenous (from the normal flora). Pathogenic bacteria cause damage to host cells mainly by producing toxins. Toxins are generally classified into two groups: exotoxins and endotoxins. The major differences between the two groups are summarized in table 4-5.

All hosts have defense mechanisms that are always operating to keep their healthy. The innate (nonspecific) defenses consist of physical, chemical, normal flora barriers, phagocytosis, inflammatory response and fever, which form the first line of defenses and prevent entrance and colonization of most pathogens. The phagocytes are capable of destroying most, but not all the invading pathogens. The adaptive (specific) defenses are the second line of defenses against a particular microorganism, which can be antibody-mediated (humoral), cell-mediated (cellular), or both. Antibody-mediated defenses are important against extracellular pathogens and their toxins. Cell-mediated

defenses are mainly utilized to cope with intracellular pathogens. Antibodies protect hosts against pathogens by a variety of mechanisms： neutralization of toxins，lysis of bacteria in the presence of complement，opsonization of bacteria to facilitate phagocytosis and interference with adherence of bacteria to host cell surfaces. T cells mediate a variety of reactions including cytotoxic destruction of intracellular bacteria-infected cells，activation of macrophages and delayed hypersensitivity.

A rather delicate balance exists between the host defenses and the disease-producing mechanisms of microorganisms. When the host defenses succeed in resisting the disease-producing capabilities of the pathogens，health is maintained. But when the ability of the pathogen overcomes the host defenses，infection and disease results. After the disease has become established，whether the infected host can recover completely，suffer permanent damage or die depends on many factors.

Infectious diseases acquired in a hospital or other medical facility are called hospital-acquired infections or nosocomical infections，which occur in about 5% ~ 20% of all admitted patients and pose a risk of increased morbidity and mortality. Urinary tracts，respiratory tracts and surgical incisions infections are the most common. The most important and widespread hospital pathogens are *Escherichia coli*，*Pseudomonas aeruginosa*，*Staphylococcus aureus*，*Enterococcus faecalis*，*Klebsilla pneumoniae*，and coagulase negative staphylococcus.

Hospital-acquired infections originally may be exogenous or endogenous. The exogenous source may be other patients or medical personnel in the hospital（cross infection）or contaminated medical equipments or hospital environment（iatrogenic infection）. A high proportion of clinically apparent hospital infections are endogenous（self infection），the infecting organism being derived from the patients’ normal flora. Hand hygiene is the single most important technique to prevent the introduction and spread of nosocomical infections.

第一节　正常菌群与机会致病菌

一、正常菌群

自然界中广泛存在着大量的不同种类的微生物。人类与自然环境接触密切，因而人体体表和与外界相通的腔道（如消化道、呼吸道、泌尿生殖道等）中寄居着不同种类和数量的微生物，通称正常菌群（normal flora）。一个健康成年人大约由10^{13}个体细胞组成，而全身定植的正常微生物总数高达10^{14}个。在正常情况下，正常菌群与宿主和平共处，不表现任何致病作用。

1. 正常菌群的组成　正常菌群在宿主出生后，即在体内迅速建立并持续存在，可分为两大类：

（1）常居菌群（resident flora）：亦称原籍菌群（autochthonous flora），是由相对固定的微生物组成，有规律地定居于特定部位，成为宿主不可缺少的组成部分（表4-1）。如果出现失调，正常菌群本身可迅速重建。

（2）过路菌群（transient flora）：亦称外籍菌群（allochthonous flora），是由非致病菌或机会致病菌所组成，来自周围环境或宿主其他生境，可在皮肤或黏膜上存留数小时、数天或数周。如果宿主免疫功能受损或常居菌群出现紊乱，过路菌群可在体内定植、繁殖和引起疾病。

研究正常微生物群的结构、功能，以及与其宿主相互关系的学科称为微生态学（microecology），其研究范畴包括正常微生物群之间、正常微生物群与宿主之间，以及正常微生物群和宿主与外界环境之间相互依存、相互制约的关系，侧重研究正常微生物群的微生态平衡（microeubiosis）、微生态失调（microdysbiosis）和微生态调整（microecological adjustment）。

2. 正常菌群的生理作用　正常菌群对构成微生态平衡和保持内环境稳定起到重要作用，对宿主是有益无害的，并且是必需的，主要生理作用有：

表4-1　医学上重要的人体常见的正常菌群

部位	重要菌类	较重要菌类
皮肤	表皮葡萄球菌	金黄色葡萄球菌、甲型和丙型链球菌、类白喉棒状杆菌、痤疮丙酸杆菌、铜绿假单胞菌、非致病性奈瑟菌
鼻腔	金黄色葡萄球菌*	表皮葡萄球菌、类白喉棒状杆菌、甲型和丙型链球菌
咽喉部	甲型链球菌	表皮葡萄球菌、乙型和丙型链球菌、肺炎链球菌、流感嗜血杆菌、非致病性奈瑟菌、类白喉棒状杆菌、肺炎支原体
口腔	甲型链球菌（缓症链球菌、唾液链球菌等）	啮蚀艾肯菌、乳杆菌、乙型和丙型链球菌、非致病性奈瑟菌、螺旋体、白假丝酵母
牙菌斑	甲型链球菌（变异链球菌）	乳杆菌、黏液放线菌、内氏放线菌、中间普氏菌、牙龈卟啉单胞菌
牙龈缝	血链球菌、脆弱类杆菌、核梭杆菌、衣氏放线菌	牙龈卟啉单胞菌、伴放线放线菌、产黑色素普氏菌、中间普氏菌、消化链球菌、螺旋体
肠道	双歧杆菌、大肠埃希菌、脆弱类杆菌	乳杆菌、乳酸链球菌、消化链球菌、真杆菌属、产气肠杆菌、肺炎克氏菌、变形杆菌、铜绿假单胞菌、粪肠球菌、金黄色葡萄球菌*、甲型和丙型链球菌、产气荚膜梭菌、破伤风梭菌、艰难梭菌、白假丝酵母
尿道	大肠埃希菌*	表皮葡萄球菌、粪肠球菌、甲型和丙型链球菌、类白喉棒状杆菌、消化链球菌、耻垢分枝杆菌、解脲脲原体
阴道	嗜酸乳杆菌、大肠埃希菌*、B群链球菌*	消化链球菌、产黑色素普氏菌、阴道加德纳菌、甲型和丙型链球菌、脆弱类杆菌、类白喉棒状杆菌、解脲脲原体、白假丝酵母

*：不属于正常菌群，但在医学上是重要的定居菌

（1）生物拮抗作用：正常菌群在宿主皮肤黏膜表面特定部位黏附、定植和大量繁殖，形成菌膜屏障。通过空间争夺、营养争夺和产生代谢产物（如乳酸、脂肪酸、细菌素、抗生素）等机制，正常菌群可抑制和排斥外籍菌的入侵和定植，维持宿主微生态平衡。研究发现，以鼠伤寒沙门菌攻击小鼠，需10万个活菌才能引起50%感染小鼠死亡；若先给予口服链霉素，抑制大多数正常菌群，则10个活菌就可引起50%感染小鼠死亡。可见，如果正常菌群出现失调，将大大削弱宿主抵御外籍菌入侵的能力。

（2）营养作用：正常菌群参与宿主的物质代谢、营养转化和合成。例如，双歧杆菌、乳杆菌、大肠埃希菌等肠道正常菌群能合成B族维生素、维生素K等，并参与糖类和蛋白质的代谢，有助于宿主消化吸收营养物质和生长发育。若宿主肠道正常菌群发生严重紊乱，则可能出现维生素缺乏症。

（3）免疫作用：正常菌群能促进宿主免疫器官的发育，刺激宿主产生免疫应答，诱生的抗体对具有交叉抗原组分的致病菌有一定的抑制或杀灭作用。正常菌群能激活巨噬细胞，增强其吞噬和抗原提呈能力，并释放多种细胞因子，以抵御外籍菌的入侵。

（4）排毒作用：双歧杆菌能使肠道过多的革兰阴性杆菌下降到正常水平，减少内毒素的释放量，并可产生酸性产物，维持肠道的正常蠕动，有利于各种毒素、致癌物等排泄。双歧杆菌可将食物中胆固醇转变为胆甾烷和粪烷，从粪便中排出。

此外，正常菌群还具有抗衰老和抗肿瘤作用。

二、机会致病菌

在正常情况下，正常菌群之间、正常菌群与其宿主之间始终处于一个动态的微生态平衡状态。但是，在特定条件下，这一微生态平衡有可能被打破，正常菌群则转化为机会致病菌，引起机会性感染（opportunistic infection）。转化条件主要有：

（1）宿主免疫防御功能下降：宿主先天或后天免疫功能缺陷（如艾滋病），患有慢性消耗性疾病（如结核病、糖尿病、肿瘤等），烧伤或烫伤，接受放疗与化疗，使用激素，器官移植后使用免疫抑制剂等，免疫防御能力普遍下降，易发生机会性（或内源性）感染。

（2）菌群失调（dysbacteriosis）：是指宿主正常菌群中各菌种间的比例发生较大幅度变化而超出正常范围的状态，特别是原籍菌的种类和数量下降，外籍菌或环境菌的种类和数量升高。严重的菌群失调可使宿主产生一系列临床症状，称之为菌群失调症。

菌群失调可导致二重感染（superinfection），即在抗菌药物治疗原感染性疾病过程中，造成体内菌群失调后而产生的新感染。当较长期或大量服用抗生素，尤其是广谱抗生素时，宿主正常菌群中的敏感菌株大部分被抑制，来自医院环境的或体内原本处于劣势的耐药菌则趁机侵入和大量繁殖，成为优势菌，引起疾病。例如，抗生素使用不当时，可破坏肠道内微生态平衡，寄居在肠道的艰难梭菌趁机迅速生长繁殖，释放大量的外毒素A和B，引起假膜性肠炎。

引起二重感染主要以金黄色葡萄球菌、革兰阴性杆菌（如铜绿假单胞菌、大肠埃希菌等）和白假丝酵母为多见，在临床上主要表现为假膜性肠炎、医院内肺炎、尿路感染、败血症等。若发生二重感染，除立即停用正在使用的抗菌药物外，需对临床标本中优势菌类进行药敏试验，以选用敏感药物治疗。同时，亦可使用微生态制剂，如双歧杆菌、乳杆菌等益生菌（probiotic），协助调整菌群类型和数量，加快恢复微生态平衡。

（3）定位转移（translocation）：是指正常菌群由原籍生境转移到外籍生境或本来无菌生存部位的现象。正常菌群在原籍生境通常是不致病的，如果转移到非正常寄居部位则可能致病。大肠埃希菌原籍生境为肠道，可侵犯下呼吸道、泌尿道、腹腔或血液，引起肺炎、尿路感染、腹膜炎或败血症。再如，当拔牙或插鼻胃管时，正常寄居在口腔或鼻咽部的甲型链球菌可侵入血液，引起菌血症。此外，甲型链球菌还可能在心瓣膜上黏附定植和繁殖，引起亚急性细菌性心内膜炎。

第二节　细菌的致病机制

细菌引起宿主疾病的能力称为致病性（pathogenicity）。细菌的致病性具有宿主特异性，有的细菌仅对人类有致病性，有的仅对某些动物有致病性，有的两者均可。细菌的致病性还具有种的特异性，如伤寒沙门菌引起伤寒，结核分枝杆菌引起结核病。致病菌的致病性强弱称为毒力（virulence）。毒力可用半数致死量（50% lethal dose，LD_{50}）或半数感染量（50% infection dose，ID_{50}）来表示，即在规定时间内，通过合适的感染途径，使一定体重和年龄的健康的易感动物半数死亡或半数感染所需的细菌数量或毒素剂量。各种致病菌的毒力常不一致，并可随不同宿主而异；即使同一种细菌也常因菌型、菌株的不同而有一定的毒力差异。

致病菌的致病机制，主要与细菌的毒力强弱、侵入机体的数量和侵入门户相关，包括感染过程的启动和疾病症状（symptom）的产生机制。另外，宿主免疫力强弱、自然因素和社会因素对感染的发生与发展亦有明显影响。

一、细菌的毒力

致病菌侵入人体引起疾病，与细菌的毒力密切相关，其致病的过程通常包括：①黏附并定植于人体某种组织细胞；②适应人体特定环境进行增殖，向其他部位侵袭或扩散；③抵抗或逃避机体的免疫防御机制；④释放毒素（toxin）或诱发超敏反应，引起机体组织器官损伤。通常将前三项统称为细菌的侵袭力（invasiveness），侵袭力和毒素构成了细菌的毒力。

（一）侵袭力

致病菌突破宿主的免疫防御机制，侵入宿主并在宿主细胞内黏附定植、繁殖和扩散的能力，称为侵袭力。细菌的侵袭力由菌体表面结构和侵袭性物质等构成。

1. 菌体的表面结构　细菌进入体内后，首先要黏附于宿主细胞表面，找到立足之地。否则将会被呼吸道的纤毛运动、肠蠕动、尿液冲洗等所清除。细菌在局部定植和繁殖，产生毒性物质，或者继续侵入深层组织或血液，直至形成感染。可见，黏附（adhesion）与定植（colonization）是绝大

多数细菌感染过程的关键性的第一步（图4-1）。在此过程中，与细菌相关的表面结构主要有：

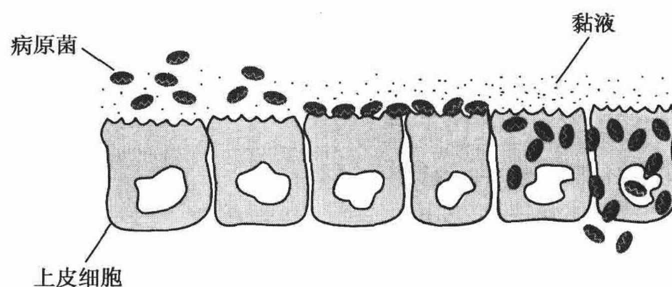


图4-1 细菌黏附与侵袭宿主黏膜上皮细胞示意图

（1）黏附素：细菌特异性黏附至宿主细胞主要由黏附素（adhesin）介导。黏附素是细菌表面的蛋白质或多糖（表4-2）。根据其来源和性质，又分为了菌毛黏附素和非菌毛黏附素。革兰阴性菌的菌毛黏附素通常为普通菌毛（ordinary pili），不同种或型的细菌可产生不同类型的菌毛；非菌毛黏附素多存在于革兰阳性菌的表面。黏附素受体一般是靶细胞表面的糖蛋白或糖脂（表4-2）。

表4-2 致病菌的黏附素及其受体

黏附素	产生菌	靶细胞受体
菌毛黏附素		
普通（Ⅰ型）菌毛	致腹泻大肠埃希菌	D-甘露糖
定植因子抗原（CFA Ⅰ，CFA Ⅱ）	肠产毒性大肠埃希菌	GM-神经节苷脂
P菌毛	尿路致病性大肠埃希菌	P血型糖脂（P血型抗原）
Ⅳ型菌毛（N-甲基苯基丙氨酸菌毛）	淋病奈瑟菌	GD1神经节苷脂
	铜绿假单胞菌	GM-神经节苷脂
	霍乱弧菌	岩藻糖和甘露糖
非菌毛黏附素		
脂磷壁酸（LTA）	金黄色葡萄球菌	纤维连接蛋白（fibronectin）
LTA-M蛋白复合物	A群溶血性链球菌	纤维连接蛋白
表面蛋白	B群链球菌	*N*-乙酰氨基葡萄糖
P1、P2、P3蛋白	梅毒螺旋体	纤维连接蛋白
表面血凝素	沙眼衣原体	*N*-乙酰氨基葡萄糖
丝状血凝素（FHA）	百日咳鲍特菌	CR3、*N*-乙酰氨基葡萄糖、肝素、硫酸糖脂
P1蛋白	肺炎支原体	唾液酸
藻酸盐	铜绿假单胞菌	黏蛋白
外膜蛋白Ⅱ	淋病奈瑟菌	跨膜糖蛋白CD66
脂寡糖	淋病奈瑟菌	唾液糖蛋白
血型抗原结合黏附素（BabA）	幽门螺杆菌	$Lewis^b$血型抗原

细菌黏附素与宿主上皮细胞表面受体的相互作用具有高度特异性，从而决定感染的组织特异性，即感染不同宿主或部位的细菌可能具有不同的黏附素（表4-2）。例如，致腹泻大肠埃希菌借助Ⅰ型菌毛与小肠黏膜上皮细胞的受体D-甘露糖结合，而尿路致病性大肠埃希菌没有D-甘露糖介导的黏附，但具有P菌毛，能黏附于泌尿生殖道黏膜上皮细胞的P血型抗原。很多致病菌可表达多种黏附素，参与识别和黏附不同的组织细胞，例如，大肠埃希菌有多种黏附素，能侵犯肺部、脑膜、小肠或泌尿生殖道，引起肺炎、脑膜炎、腹泻或尿路感染等。

（2）荚膜和微荚膜：有些致病菌（如肺炎链球菌、产气荚膜梭菌等）具有荚膜，故有抗吞噬细胞的吞噬作用，抵抗体液中的补体等成分对菌体的损伤作用。此外，A群溶血性链球菌的M蛋白、

伤寒沙门菌的Vi抗原和大肠埃希菌K抗原，都具有微荚膜的保护作用。

（3）鞭毛：在黏附与定植过程中，少数细菌的鞭毛有重要作用。例如，幽门螺杆菌借助活泼的鞭毛运动，迅速穿过胃黏膜表面的黏液层，到达胃黏膜上皮细胞上，以避免胃酸的杀灭作用；霍乱弧菌和空肠弯曲菌通过鞭毛运动，迅速穿越小肠黏液层，到达小肠黏膜上皮细胞表面黏附与定植，从而不被肠蠕动排出体外。

（4）细菌形成的生物被膜：在自然界中，绝大多数细菌并不是以单个浮游（planktonic）状态的形式分布，而是以细菌生物被膜（bacterial biofilm）的形式存在。细菌生物被膜是细菌相对于浮游状态的一种群体生存形式，由细菌、胞外多糖、藻酸盐等多种成分组成，可由单一菌种或多菌种构成。细菌生物被膜具有屏障作用，故存在于生物被膜中的菌体（被膜菌）较其单个浮游状态的菌体（浮游菌），对抗菌药物、消毒剂表现出更强的抗性，可抵抗宿主免疫防御机制的清除作用，因此常引起难治性慢性细菌感染（图4-2）。



图4-2（A） 细菌生物被膜形成过程示意图



图4-2（B） 细菌生物被膜
图为定植于静脉导管表面的表皮葡萄球菌生物被膜扫描电镜照片（×6000）Coming from Lansing M.Prescott et al. Microbiology, Fifth Ed. McGraw-Hill Companies. 2002

细菌生物被膜的形成过程是，在环境信号的作用下，细菌通过鞭毛运动并借助菌毛等黏附于有生命或无生命的物体表面（如病变组织或植入的生物材料），合成和分泌大量的胞外多糖（exopolysaccharide，EPS）与糖蛋白复合物，将自身包裹其中；细菌大量繁殖后相互粘连，形成微菌落（microcolony）；多个微菌落相互融合，形成生物被膜。细菌感染性疾病大多与生物被膜的形成有关。例如，口腔中变异链球菌等能利用蔗糖合成不溶于水的葡聚糖，使变异链球菌、乳杆菌、黏液放线菌等正常菌群彼此粘连，牢固黏附于牙齿表面，形成牙菌斑（dental plaque）。乳杆菌、黏液放线菌等在菌斑中分解葡萄糖，产生大量乳酸、甲酸和乙酸，造成牙釉质中钙、磷离子的丢失，形成龋齿（dental caries）。又如，甲型链球菌、铜绿假单胞菌、大肠埃希菌、凝固酶阴性葡萄球菌等通过表面糖蛋白和（或）脂磷壁酸等介导，可黏附于人体黏膜上皮细胞或植入的医疗材料，如人工瓣膜、人工关节、人工晶体、插管导管等表面，形成生物被膜，从而阻断抗生素、免疫细胞、免疫分子的渗入和杀伤作用，引起持续性和难治性感染，如亚急性感染性心内膜炎、铜绿假单胞菌性囊性纤维变性肺炎、呼吸机相关感染、人工关节感染、导管相关感染等。

2. 侵袭性物质 一些致病菌（如金黄色葡萄球菌、白喉棒状杆菌）的感染仅局限于皮肤或黏膜表面。但是，大多数致病菌需要侵入宿主上皮细胞内或更深层组织，或经血液播散至全身，到达适合其生长繁殖的靶细胞，方可引起疾病，该过程称为侵袭（invasion）。

（1）侵袭素：有些致病菌（如单核细胞李斯特菌）借助黏附素与宿主细胞表面受体结合后，即可启动侵袭过程，由黏膜上皮细胞包裹而侵入；有些致病菌的侵袭过程可能涉及一系列基因的表达、通过Ⅲ型分泌系统将效应蛋白注入宿主细胞内、细菌与宿主细胞之间发生信号转导、细胞骨架重排、致病菌内在化（internalization）等。例如，福氏志贺菌通过M细胞（microfold cell）的转运，穿越结肠黏膜上皮细胞层，到达黏膜下固有层后，与巨噬细胞发生相互作用，激活Ⅲ型分泌系统，分

泌侵袭性质粒抗原（invasion plasmid antigen，Ipa）Ipa B、Ipa C、Ipa D等侵袭素（invasin），诱导巨噬细胞细胞膜凹陷并侵入其中，形成吞噬泡（phagocytic vesicle），继而迅速破坏吞噬泡膜，逃逸至细胞质中繁殖，并诱导巨噬细胞凋亡而释放（图4-3）。之后，位于黏膜上皮细胞基底膜的志贺菌侵入结肠上皮细胞内，并向邻近上皮细胞扩散，大量繁殖后产生毒素，导致宿主细胞死亡，造成浅表组织产生炎症或损伤。有的致病菌（如脑膜炎奈瑟菌、伤寒沙门菌等）能穿越黏膜上皮细胞或通过细胞间质，侵入更深层组织或血液中，导致深部感染或全身感染。有的致病菌（如结核分枝杆菌、嗜肺军团菌等）被吞噬细胞吞噬后不被杀死，随着吞噬细胞转移至淋巴结和血液中，可扩散至宿主全身，引起全身感染。

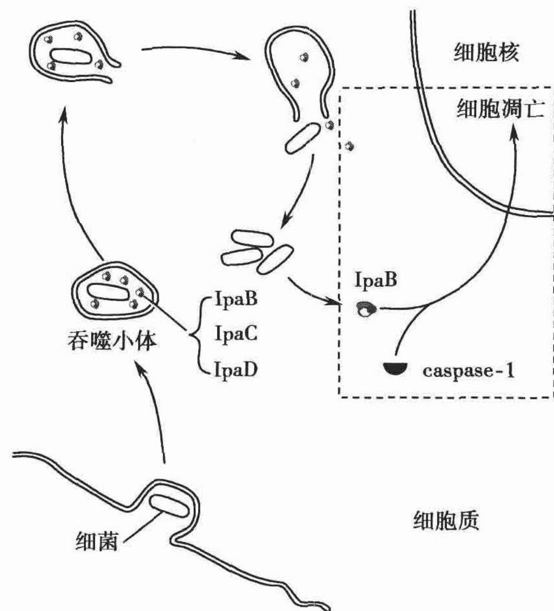


图4-3 志贺菌侵入吞噬细胞并诱导吞噬细胞凋亡示意图

（2）侵袭性酶：当致病菌在感染原始部位向其他部位扩散时，必然要受到宿主屏障作用的限制。但是，有些致病菌能产生降解和损伤组织细胞的侵袭性胞外酶（invasive exoenzyme），破坏宿主防御机制，协助细菌扩散（表4-3）。例如，A群溶血性链球菌产生的透明质酸酶、链激酶和链道酶，能降解细胞间基质透明质酸、溶解血纤维蛋白、液化脓液中高黏度的DNA等，有利于细菌扩散至邻近组织，引起扩散性很强的化脓性感染，与周围组织界线不清，脓汁稀薄。目前，链激酶已用于治疗急性心肌梗死、脑血栓等。

表4-3 致病菌侵袭性酶类及其作用机制

侵袭性酶	产生菌	作用机制
透明质酸酶	A群溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、产气荚膜梭菌、肺炎链球菌	水解结缔组织的细胞外基质透明质酸，使组织疏松，通透性增加，促使细菌扩散
溶纤维蛋白酶（如链激酶）	A群溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌	激活血液中纤维蛋白酶原，转变为纤维蛋白酶，溶解血凝块，利于细菌扩散
DNA酶（如链道酶）	A群溶血性链球菌、金黄色葡萄球菌、产气荚膜梭菌	降解脓汁中高度黏稠的DNA，使脓汁稀薄，利于细菌扩散
胶原酶	A群溶血性链球菌、产气荚膜梭菌	降解结缔组织中胶原蛋白，促使细菌扩散
血浆凝固酶	金黄色葡萄球菌	使血纤维蛋白原变为固态的血纤维蛋白，导致血浆凝固，保护细菌免受吞噬和杀灭
弹性蛋白酶	铜绿假单胞菌	降解血管基底膜中的弹性蛋白，损伤血管，灭活补体，干扰宿主免疫防御机制
尿素酶	幽门螺杆菌、变形杆菌	分解尿素产生氨，中和胃酸，破坏黏膜上皮细胞
IgA蛋白酶	流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、变形杆菌	水解宿主黏膜表面的SIgA，降低宿主抑制细菌黏附的能力
磷脂酰胆碱酶（卵磷脂酶）	产气荚膜梭菌	水解细胞膜的磷脂酰胆碱（卵磷脂），导致红细胞、白细胞、血小板和内皮细胞溶解，血管通透性增加，利于细菌扩散
过氧化氢酶、超氧化物歧化酶	结核分枝杆菌、伤寒沙门菌、幽门螺杆菌、布鲁菌	清除反应性氧中介物H_2O_2、OH^-和O_2^-，免遭吞噬细胞的杀伤作用
神经氨酸酶	肺炎链球菌、铜绿假单胞菌	水解*N*-乙酰神经氨酸，使上皮细胞表面的受体暴露，利于细菌黏附、定植与扩散

3. 逃逸宿主的防御机制 致病菌侵入机体后，可采用不同的策略来抵抗或逃避宿主的免疫杀伤，称之为免疫逃逸（immune escape）（表4-3）。

（1）抗吞噬和消化作用：具有荚膜和微荚膜的细菌，能抵抗吞噬细胞的吞噬和消化作用。淋病奈瑟菌的菌毛等亦具有抗吞噬功能。金黄色葡萄球菌凝固酶能使血浆中的液态纤维蛋白原变成固态的纤维蛋白，沉积于菌体表面，阻碍吞噬细胞的吞噬。

有些胞内菌虽被吞噬细胞吞噬，但能抵抗杀伤作用，在吞噬细胞中生存和繁殖（图4-4），称之为不完全吞噬（incomplete phagocytosis）。胞内菌逃避免疫杀伤的策略可能有：①避免进入吞噬溶酶体（phagolysome），如产单核细胞李斯特菌、志贺菌等；②阻止吞噬体（phagosome）与溶酶体（lysosome）的融合，在吞噬体内生存，如结核分枝杆菌、嗜肺军团菌、伤寒沙门菌等；③抑制吞噬溶酶体酸化，以不寻常的“卷入吞噬作用”（coiling phagocytosis）方式进入吞噬细胞，不引起呼吸爆发，免受因呼吸爆发产生的反应性氧中介物（reactive oxygen intermediate）等强氧化物质的杀伤，如嗜肺军团菌；④产生过氧化氢酶和超氧化物歧化酶，有效地清除H_2O_2、OH^-和O_2^-，因而可在吞噬溶酶体中存活，如结核分枝杆菌；⑤合成酪氨酸磷酸酯酶和丝氨酸激酶，注入吞噬细胞内，导致吞噬功能完全丧失，如伤寒沙门菌。

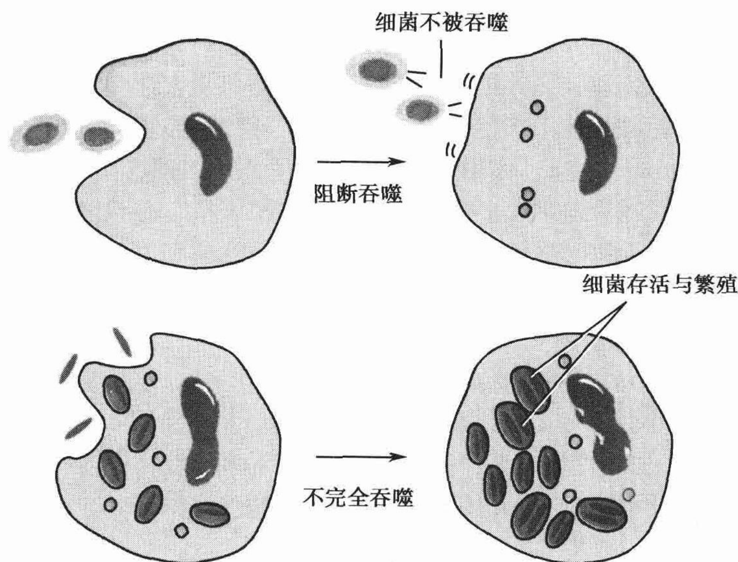


图4-4 抗吞噬作用（上）和不完全吞噬（下）示意图

（2）产生IgA蛋白酶：为逃避宿主特异性黏膜免疫应答，流感嗜血杆菌、肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌能产生IgA蛋白酶，水解宿主黏膜表面的SIgA，增强致病菌在黏膜上皮细胞黏附与生存能力。

（3）抗原变异：通过修饰菌体表面抗原，可协助致病菌逃避宿主特异性免疫应答。例如，淋病奈瑟菌感染后，机体的免疫反应主要是针对菌毛和外膜蛋白PⅡ抗原。由于细菌的基因突变或基因重排，菌毛和外膜蛋白Ⅱ不断改变其抗原性，使宿主原有的特异性抗体失效。

（4）干扰补体活性：某些致病菌能抑制补体活化或灭活补体活性片段，抵抗补体的溶菌、调理及趋化作用。例如，铜绿假单胞菌分泌弹性蛋白酶，可灭活补体片段C3a、C5a等，抑制趋化作用;流感嗜血杆菌和淋病奈瑟菌外膜上具有修饰过的脂寡糖（lipooligosaccharide），可避免细胞膜受损伤。

此外，细菌超抗原及脂多糖可过度激活多种免疫细胞，诱导产生过量的TNF-α、IL-1等细胞因子，导致宿主免疫功能紊乱。葡萄球菌蛋白A可与IgG类抗体的Fc段结合，干扰抗体介导的调理作用。凝固酶阴性葡萄球菌、铜绿假单胞菌和甲型链球菌等能形成生物被膜，抵抗免疫细胞、免疫分子等的渗透和杀灭作用。

（二）毒素

根据细菌毒素的来源、性质和作用机制等不同，细菌毒素可分为外毒素（exotoxin）和内毒素（endotoxin）两大类。在细菌毒素和侵袭性酶的直接作用下，宿主细胞的功能受到破坏；此外，由宿主细胞释放的细胞因子等也可参与超敏反应，引起宿主的免疫病理损伤（表4-3，表4-4）。

1. 外毒素　产生外毒素的细菌主要是革兰阳性菌，如破伤风梭菌、肉毒梭菌、白喉棒状杆菌、产气荚膜梭菌、A群溶血性链球菌等。少数革兰阴性菌如痢疾志贺菌、霍乱弧菌、肠产毒性大肠埃希菌等也能产生外毒素。大多数外毒素是在菌体内合成后分泌至菌体外；也有少数存在于菌体内，待细菌死亡裂解后才释放出来，如痢疾志贺菌和肠产毒型大肠埃希菌。

外毒素化学成分是蛋白质，一般多为A-B型结构，易被蛋白酶分解破坏。绝大多数外毒素不耐热。例如，白喉毒素在58～60℃经1～2小时，破伤风痉挛毒素在60℃经20分钟可被破坏。但葡萄球菌肠毒素是例外，能耐100℃ 30分钟。

外毒素的毒性作用强。例如，1μg肉毒毒素能杀死20万只小鼠，对人的最低致死量为0.1μg，其毒性比氰化钾大1万倍，是目前已知的生物毒素中毒性最强的毒素。外毒素对宿主组织细胞具有高度选择性毒性作用，引起特殊的临床病变。根据作用的主要靶点和所致临床病理特征的不同，外毒素又可分为神经毒素、细胞毒素和肠毒素三大类（表4-4）。

（1）神经毒素（neurotoxin）：主要引起神经传导功能异常。例如，破伤风痉挛毒素能阻断上下神经元间抑制性神经介质的传递，导致神经持续兴奋与骨骼肌强直性痉挛；肉毒毒素作用于神经肌肉接头突触前膜，能阻断胆碱能神经末梢释放乙酰胆碱，导致神经肌肉麻痹。

（2）细胞毒素（cytotoxin）：通过作用于靶细胞的某种酶或细胞器，引起相应组织器官炎症和坏死等。例如，白喉毒素对呼吸道黏膜上皮细胞、外周神经末梢、心肌细胞等有高度亲嗜性，通过抑制靶细胞蛋白质的合成，导致咽喉部假膜形成、外周神经麻痹和中毒性心肌炎等。有些细菌毒素能利用膜损伤机制导致宿主细胞裂解，称之为膜损伤毒素（membrane-disrupting toxin）或溶细胞毒素（cytolytic toxin），如链球菌溶素O。

（3）肠毒素（enterotoxin）：可引起胃肠道各种炎症、呕吐、水样腹泻、出血性腹泻等症状。例如，霍乱肠毒素可激活小肠黏膜上皮细胞内腺苷环化酶，超量合成cAMP，导致小肠黏膜上皮细胞的水分和电解质大量丢失，引起水样腹泻；葡萄球菌肠毒素随食物进入胃肠道，再吸收入血，到达中枢神经系统，刺激呕吐中枢，导致以呕吐为主要症状的食物中毒。

根据肽链分子结构特点，外毒素可分为两大类（表4-4）：

（1）A-B型毒素（type A-B toxin）：多数外毒素属于此类，是由两种不同功能的肽链构成完整毒素，其中A链具有生物学活性，为毒性中心，决定毒素作用方式及致病特点；B链负责识别靶细胞膜上特异性受体并与之结合，介导A链进入靶细胞内，决定毒素对宿主细胞的选择亲和性。A链与B链必须保持完整的分子结构才能发挥毒性作用。A链具有激活或修饰细胞内靶位的酶活性，如腺苷二磷酸核糖转移酶、葡萄糖基转移酶、脱嘌呤酶、锌内肽酶、腺苷环化酶等。B链抗原性强，可作为疫苗，预防相关的外毒素性疾病。

（2）单肽链毒素（single-chain toxin）：只有一条肽链，不被水解成A链和B链，也无相当于A、B链的独立功能区。这类毒素能损伤细胞膜，主要包括：①膜损伤毒素或膜穿孔毒素（pore-forming toxin）：如金黄色葡萄球菌α溶素，毒素的单体或聚合物插入靶细胞膜中形成跨膜孔，导致细胞内容物外泄而裂解；②磷脂酶类毒素：如产气荚膜梭菌α毒素是磷脂酰胆碱酶，可水解宿主细胞膜的磷脂酰胆碱，破坏膜结构而导致细胞溶解。

在细菌外毒素中，具有超抗原（superantigen，SAg）性质的主要有葡萄球菌肠毒素A～E、毒性休克综合征毒素-1、链球菌致热外毒素A～C、链球菌M蛋白、铜绿假单胞菌外毒素A等（表4-4）。细菌毒素性超抗原作为一类强大的免疫激活因子，其生物学效应主要有：①对免疫系统的直接效应：SAg可作为T细胞的“有丝分裂原”（mitogen），超常量地激活T细胞。由于T细胞被大量激活后，

表4-4　细菌外毒素的种类和作用机制

外毒素	产生菌	分子结构	作用机制	疾病：症状和体征
一、神经毒素				
破伤风痉挛毒素	破伤风梭菌	A-B	阻断抑制性神经元释放甘氨酸等抑制性神经介质	破伤风：全身骨骼肌强直性痉挛
肉毒毒素	肉毒梭菌	A-B	抑制胆碱能运动神经元释放乙酰胆碱	肉毒中毒：神经肌肉松弛性麻痹
二、细胞毒素				
白喉毒素	白喉棒状杆菌	A-B	灭活延长因子-2，抑制靶细胞蛋白质合成	白喉：假膜形成、心肌损伤、外周神经麻痹
毒性休克综合征毒素	金黄色葡萄球菌	单肽链	为超抗原，激活大量T细胞，诱生过量的细胞因子	毒性休克综合征：高热、猩红热样皮疹、休克
表皮剥脱毒素	金黄色葡萄球菌	单肽链	水解皮肤桥粒中的蛋白质，引起表皮与真皮脱离	烫伤样皮肤综合征：弥散性红斑，表皮剥脱性病变
致热外毒素	A群溶血性链球菌	单肽链	为超抗原，破坏毛细血管内皮细胞	猩红热：高热、全身红色皮疹
百日咳毒素	百日咳鲍特菌	A-5B	阻断G蛋白介导的信号转导，激活腺苷环化酶	百日咳：黏稠分泌物增多，阵发性痉挛性咳嗽
艰难梭菌外毒素B	艰难梭菌	A-B	使肌动蛋白丝解聚，破坏细胞骨架，导致细胞凋亡	假膜性肠炎：肠壁细胞坏死，假膜形成
α-毒素	产气荚膜梭菌	单肽链	水解细胞膜上的磷脂酰胆碱，溶解红细胞等	气性坏疽：血管通透性增加，水肿，细胞坏死
葡萄球菌溶素	金黄色葡萄球菌	单肽链	细胞膜穿孔，细胞裂解	化脓性炎症：组织损伤
链球菌溶素O	A群溶血性链球菌	单肽链	细胞膜穿孔，细胞裂解	化脓性炎症：组织损伤
三、肠毒素				
霍乱肠毒素	霍乱弧菌	A-5B	激活腺苷环化酶，增高小肠上皮细胞内cAMP水平	霍乱：严重的上吐下泻，米泔样粪便
不耐热肠毒素	肠产毒性大肠埃希菌	A-5B	同霍乱肠毒素	腹泻：水样、非血性腹泻
耐热肠毒素	肠产毒性大肠埃希菌	单肽链	激活鸟苷环化酶，增高小肠上皮细胞内cGMP水平	腹泻：水样、非血性腹泻
志贺毒素*	肠出血性大肠埃希菌、痢疾志贺菌	A-5B	降解60S亚基28S rRNA，抑制靶细胞蛋白质合成	出血性肠炎：血性腹泻 细菌性痢疾：黏液脓血便
葡萄球菌肠毒素	金黄色葡萄球菌	单肽链	为超抗原，刺激呕吐中枢	食物中毒：以呕吐为主、腹痛、腹泻
艰难梭菌外毒素A	艰难梭菌	A-B	趋化中性粒细胞浸润肠壁，释放细胞因子	假膜性肠炎：水样或血性腹泻，肠壁出血性坏死

*：志贺毒素亦可纳入细胞毒素

随之出现凋亡，T细胞数量骤减，必然使宿主免疫功能下降，继发免疫抑制。此外，SAg还可能大量激活B细胞，使之分化为浆细胞，产生自身抗体，引起自身免疫。例如，毒性休克综合征患者常伴有关节炎、滑膜炎等；②由细胞因子介导的间接效应：SAg超常量激活T细胞和MHC分子表达细胞，使之分泌过量的细胞因子，尤其是IL-1、IL-2、IL-6、TNF-α和IFN-γ等，导致免疫功能严重紊乱，往往对机体产生毒性效应，如体温升高，炎性细胞浸润，血管内皮细胞或其他细胞损伤，释放生物活性介质，渗透压平衡失调等。因此，SAg与毒性休克样综合征、食物中毒、链球菌性肾

小球肾炎、猩红热等密切相关。

外毒素大多具有良好的抗原性，可刺激机体产生抗毒素（antitoxin）。抗毒素能中和游离的外毒素的毒性作用，保护靶细胞免受损伤。外毒素可被甲醛脱去毒性，但仍保持免疫原性，成为类毒素（toxoid）。类毒素注入机体后，不再引起疾病，但可刺激机体产生抗毒素。因此，类毒素和抗毒素在防治白喉、破伤风、肉毒中毒等疾病中有重要的实际意义。

致病菌的毒力因子大多是由质粒（plasmid）、转座子（transposon）和温和噬菌体（temperate bacteriophage）所携带，亦可存在于细菌染色体DNA或致病岛（pathogenicity island）上。毒力基因可在相关细菌之间发生水平转移，产生毒力更强或更适应宿主环境的新的致病菌。

白喉毒素、志贺毒素、霍乱肠毒素等由温和噬菌体基因编码；破伤风痉挛毒素、表皮剥脱毒素、肠产毒性大肠埃希菌黏附素、耐热肠毒素与不耐热肠毒素、炭疽芽胞杆菌的荚膜与炭疽毒素等由质粒编码；链球菌溶素O、百日咳毒素、艰难梭菌外毒素A和B等由细菌染色体DNA编码。肉毒毒素有7种血清型，可分别由温和噬菌体、质粒或染色体DNA编码。大多数细菌的毒力相关基因位于染色体上。

致病岛或毒力岛具有以下特征：①为相对分子量较大的（10～200kb）的染色体DNA片段；②存在于强毒株，在相关菌的弱毒株或无毒株中通常不存在；③含有编码细菌毒力及毒力相关因子的基因簇，其产物多为分泌性蛋白和细菌表面蛋白，如溶素、菌毛等。一些致病岛编码毒力因子的分泌系统、信号转导系统和调节系统；④致病岛的两侧常常具有同向重复序列和插入元件；⑤大多位于细菌染色体的tRNA基因位点内或附近，或者位于与噬菌体整合有关的位点，原因可能是tRNA基因高度保守，可为重组酶提供适宜的结合部位，成为外源DNA的整合位点；⑥致病岛DNA片段的G + C mol%和密码子使用与宿主菌染色体有明显差异，提示致病岛可能是通过基因的水平转移从外界获得的；⑦是可移动的遗传成分和不稳定的DNA区域，可发生部分或完全缺失。缺失的频率为10^{-5}～10^{-4}。

近年来，相继在大肠埃希菌、鼠疫耶氏菌、幽门螺杆菌、霍乱弧菌、福氏志贺菌等中发现20多个致病岛。致病岛可增强宿主菌在特定环境中定植、繁殖和扩散的能力，赋予致病菌特殊的致病能力，介导感染过程的特殊阶段，并且在细菌进化过程中扮演重要角色，影响进化的进程和方向，致病岛的获得可能与新现致病菌密切相关。因此，致病岛的发现为深入了解细菌的致病性、毒力因子和进化提供了有效的途径。

2. 内毒素　内毒素是革兰阴性菌细胞壁外膜中的脂多糖（lipopolysaccharide，LPS），由特异性O多糖（O polysaccharide side chain）或O抗原（O antigen）、非特异性核心多糖（core polysaccharide）和脂质A（lipid A）三部分组成，依靠脂质A锚在革兰阴性菌外膜脂质双层上。在细菌存活时，LPS只是细胞壁的结构组分，通常不表现毒性作用。只有当细菌死亡裂解后，LPS才游离出来，发挥毒性效应。可见，若细菌大量繁殖后才使用抗生素，则可能因内毒素的大量释放而加重病情。

内毒素耐热，加热100℃经1小时不被破坏；需加热至160℃经2～4小时，或用强碱、强酸或强氧化剂加温煮沸30分钟才被灭活。可见，注射液、药品、输液用的蒸馏水若被革兰阴性菌污染后，虽经高压蒸汽灭菌法杀灭细菌，但内毒素不被破坏，仍可引起临床不良后果。内毒素抗原性很弱，不能用甲醛脱毒成类毒素。内毒素注射机体可产生相应抗体，但中和作用较弱。

内毒素的毒性作用相对较弱。脂质A是内毒素的主要毒性组分。不同革兰阴性菌的脂质A结构虽有差异,但基本相似。因此,由内毒素引起的毒性作用大致相同。LPS并不直接损伤各种组织器官，其致病机制可能是：LPS通过脂质A与血液中LPS结合蛋白（lipopoly- saccharide binding protein，LBP）结合后，再与单核-巨噬细胞表面的受体CD14分子结合，形成LPS-LBP-CD14复合物，并与Toll样受体4（Toll-like receptor 4，TLR4）及辅助受体髓样分化因子2（myeloid differential factor-2，MD-2）相互作用，触发细胞内信号转导级联反应，激活单核-巨噬细胞产生和释放TNF-α、IL-1、

IL-6、IL-8等细胞因子，继而刺激免疫细胞、内皮细胞和黏膜上皮细胞等，产生一系列炎性细胞因子、生物活性介质、急性期蛋白（acute phase protein）等，引起多种组织器官或全身性多种病理生理反应。主要临床症状有：

（1）发热反应：极微量（1～5ng/kg）内毒素注入人体即可引起体温上升，维持约4小时后恢复。其机制是：内毒素刺激巨噬细胞、单核细胞、内皮细胞等，使之合成和释放IL-1、IL-6和TNF-α等内源性致热原（endogenous pyrogen），作用于宿主下丘脑体温调节中枢，促使体温升高而发热。不过，适度发热有利于宿主抵御致病菌的感染。

（2）白细胞反应：内毒素入血后，血循环中的中性粒细胞数量骤减，系与其移动并黏附至感染部位的毛细血管壁有关。1～2小时后，LPS诱生的中性粒细胞释放因子（neutrophil releasing factor）刺激骨髓释放中性粒细胞进入血液，使白细胞数量显著增加。但伤寒沙门菌内毒素是例外，始终使血循环中的白细胞总数减少，机制尚不清楚。

（3）内毒素血症与内毒素休克：大量内毒素（感染病灶内或输液中革兰阴性菌死亡后释放出）进入血液后，可过度激活单核-巨噬细胞、中性粒细胞、内皮细胞等，产生过量的TNF-α、IL-1、IL-6等，引起高热。内毒素激活补体系统，产生C3a和C5a，继而促使肥大细胞、血小板等释放组胺、5-羟色胺、前列腺素等生物活性介质；TNF-α、IL-8、C3a、C5a等趋化因子招引中性粒细胞聚集至感染部位，损伤血管内皮细胞，导致毛细血管扩张和通透性增加，重要组织器官的毛细血管灌注不足，引起局部水肿、充血和微循环障碍等，称之为内毒素血症（endotoxemia）。严重时则出现以高热、低血压和微循环衰竭为主要特征的内毒素休克（endotoxic shock）。其中，尤以伤寒沙门菌、志贺菌、脑膜炎奈瑟菌和大肠埃希菌所致的内毒素休克特别危险。

（4）弥散性血管内凝血（disseminated intravascular coagulation，DIC）：是指继发于革兰阴性菌内毒素血症的常见综合征，主要表现为小血管内广泛微血栓形成和凝血功能障碍。发生机制是：当发生严重的革兰阴性菌感染时，高浓度的内毒素可直接激活血凝因子Ⅻ，激活凝血系统和激肽系统；或通过损伤血管内皮细胞，间接激活凝血系统；或通过激活血小板和白细胞，使之释放血小板促凝因子，促使纤维蛋白原转变为纤维蛋白，加重血液凝固，形成微血栓，并启动溶血系统，最终造成局部缺血、缺氧、出血、重要组织器官衰竭等。

细菌外毒素与内毒素的主要区别见表4-5。

表4-5　外毒素与内毒素的主要区别

特性	外毒素	内毒素
来源	革兰阳性菌与部分革兰阴性菌	革兰阴性菌
存在部分	活菌分泌出，少数细菌死亡裂解后才释放	细胞壁组分，细菌死亡裂解后释放出
化学成分	蛋白质。大多为A-B型毒素	脂多糖。主要毒性组分是脂质A
热稳定性	大多不耐热，60～80℃ 30min被破坏	耐热，160℃ 2～4h才被破坏
毒性作用	强，对组织器官有选择性毒性效应，引起特殊临床表现，但通常不会引起发热	较弱，各菌的毒性效应大致相同，引起发热、白细胞增多、内毒素血症、休克、DIC等
抗原性	强，刺激机体产生抗毒素；甲醛液处理脱毒形成类毒素	弱，刺激机体产生的中和抗体作用弱；甲醛液处理不形成类毒素
编码基因	常由质粒、噬菌体等染色体外基因编码	由染色体基因编码

二、细菌的侵入数量

感染的发生，除致病菌必须具有一定的毒力外，还需有足够的数量。感染所需菌量的多少，一方面与致病菌毒力强弱有关，另一方面取决于宿主免疫力的高低。一般细菌毒力越强或（和）宿主免疫力越低，引起感染所需的菌量越小。例如，在无特异性免疫力的宿主中，毒力强大的鼠

疫耶氏菌只需数个菌侵入即可发生感染；而毒力弱的某些引起食物中毒的鼠伤寒沙门菌，常需摄入数亿个菌才会引起急性胃肠炎。有些致病菌在人体内需达到一定的数量方可启动毒力基因的表达，引起疾病。

三、细菌侵入的门户

具有一定毒力和足够数量的致病菌，若侵入门户或途径（portal or route）不适宜，仍不能引起感染。致病菌具有各自特定的侵入门户，这与其生长繁殖所需特定的微环境有关。例如伤寒沙门菌必须经口进入；脑膜炎奈瑟菌应经呼吸道吸入；破伤风梭菌的芽胞需进入深部创伤，在厌氧微环境中才能发芽和生长繁殖等。也有一些致病菌的侵入门户不止一个，结核分枝杆菌可经呼吸道、消化道、皮肤创伤等多个门户侵入而造成感染。

第三节 细菌感染的发生与发展

一、传染源

在感染性疾病中，根据病原体来源，可分为外源性感染（exogenous infection）和内源性感染（endogenous infection）；根据感染发生场所，可分为社区感染（community-acquired infection）和医院感染（hospital-acquired infection）。

1. 外源性感染　外源性感染是指病原体来自宿主体外的感染。

（1）患者：大多数人类感染是通过人与人之间的传播。患者在疾病的潜伏期一直到病后一段恢复期内，都有可能将致病菌传播给其他人。与患者密切接触的人如果未经免疫，则可能存在被感染的危险。医院感染的致病菌大多可经医护人员的手发生人-人传播。

（2）带菌者：有些健康人或传染病潜伏期患者可携带某种致病菌，也有些传染病患者恢复后一段时间内仍继续排菌。健康带菌者和恢复期带菌者是很重要的传染源，因其无临床症状，不易被人们察觉，难以控制，故危害性大于患者。如伤寒和痢疾的恢复期带菌者就可以不断排出沙门菌、志贺菌等，易污染环境。

（3）病畜和带菌动物：有些致病菌主要存在于动物体内，偶尔感染人类，称之为人兽共患的致病菌。通过直接接触受感染动物、食用受污染的肉奶蛋制品或昆虫叮咬等，病畜或带菌动物的致病菌可传播给人类。例如鼠疫耶氏菌、炭疽芽胞杆菌、布鲁菌、鼠伤寒沙门菌等可经动物传播给人。

此外，外界环境中亦存在许多致病菌和条件致病菌，如土壤中的破伤风梭菌、产气荚膜梭菌，医院供水或空调系统中的嗜肺军团菌等。

2. 内源性感染　内源性感染是指病原体来自患者体内或体表的感染，亦称为自身感染。致病菌大多是存在于体表和与外界相通的腔道中的正常菌群，少数是以潜伏状态存在于体内的致病菌（如结核分枝杆菌）。正常菌群在特定条件下转化为机会致病菌后才致病。

二、传播方式与途径

（1）皮肤感染：皮肤黏膜是宿主抗感染的“第一道防线”。如果皮肤出现细小破损或烧（烫）伤，金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、铜绿假单胞菌等可侵入引起化脓性感染。在泥土、人类与动物粪便中，可能存在破伤风梭菌、产气荚膜梭菌等芽胞。这些芽胞若进入皮肤深部伤口，微环境适宜时可发芽与繁殖，产生外毒素而致病。通过皮肤接触患病动物及受染皮毛等，可感染炭疽芽胞杆菌等。有些致病菌是通过节肢动物叮咬而传播的。例如，鼠疫耶氏菌由鼠蚤传播。

（2）呼吸道感染：患者或带菌者的痰液和唾液中含有大量的致病菌，通过咳嗽、喷嚏、高声说话时喷出的痰液、飞沫和飞沫核，散布到周围空气中，经呼吸道途径可感染他人。空调系统形成的气溶胶和雾化器、湿化器等吸入治疗装置内的液体若被致病菌污染，也可发生感染。引起上呼吸道

感染的细菌主要有A群溶血性链球菌、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌等；引起下呼吸道感染的细菌主要有肺炎链球菌、结核分枝杆菌、嗜肺军团菌等。

（3）消化道感染：又称粪-口途径感染，大多是摄入粪便污染的饮水、食物所致。水、食物、手指和苍蝇等是消化道传染病传播的重要媒介。通过消化道传播的致病菌主要有伤寒沙门菌、志贺菌和霍乱弧菌，以及可引起感染性食物中毒的鼠伤寒沙门菌、大肠埃希菌O157：H7、副溶血性弧菌、空肠弯曲菌等。

（4）泌尿生殖道感染：通过性接触传播的致病菌主要有淋病奈瑟菌。淋病奈瑟菌、B群链球菌等亦可经产道感染。大肠埃希菌、凝固酶阴性葡萄球菌、变形杆菌等可引起尿路感染。

有些致病菌，如结核分枝杆菌、炭疽芽胞杆菌可经呼吸道、消化道、皮肤创伤等多种途径传播。

三、感染的类型

感染的发生、发展和结局，是宿主的免疫力和致病菌的致病能力相互作用的复杂过程。根据双方力量对比，可出现隐性感染（inapparent infection）、显性感染（apparent infection）和带菌状态（carrier state）等不同临床表现。随着双方力量的消长，这几种类型可以转化或交替出现。

（1）隐性感染：当宿主的抗感染免疫力较强，或侵入的致病菌数量不多、毒力较弱时，感染后对机体损害较轻，不出现或只出现不明显的临床症状，是为隐性感染，又称亚临床感染（subclinical infection）。在大多数传染病流行中，隐性感染者一般约占人群的90%或更多。隐性感染后，机体常可获得足够的特异性免疫力，能抵御同种致病菌的再次感染。隐性感染的宿主可向体外排出致病菌而成为重要的传染源。流行性脑脊髓膜炎、结核、白喉、伤寒等常有隐性感染。

（2）显性感染：当宿主的抗感染免疫力较弱，或侵入的致病菌数量较多、毒力较强时，机体的细胞组织受到不同程度的损害，出现一系列明显的临床症状和体征，是为显性感染。由于每一病例的宿主免疫力和细菌致病能力存在着差异，因此，显性感染又分为以下不同模式。

临床上按病情缓急不同，可分为：

1）急性感染（acute infection）：病情发展迅速，病程较短，一般是数日至数周。病愈后，外来的致病菌从宿主体内消失，但内源性感染的机会致病菌则不一定消灭。如脑膜炎奈瑟菌、霍乱弧菌等可引起急性感染。

2）慢性感染（chronic infection）：病情较急性感染轻，病程缓慢，常持续数月至数年。如结核分枝杆菌等胞内菌往往引起慢性感染。

3）亚急性感染（subacute infection）：病情发展不及急性感染迅速，病程不及慢性感染持续时间长，如甲型链球菌所致的亚急性细菌性心内膜炎。

临床上按感染的部位及性质不同，可分为：

1）局部感染（localized infection）：致病菌侵入宿主体后，仅局限在一定部位生长繁殖，释放毒素，引起局部病变。例如，化脓性球菌所致的疖和痈、幽门螺杆菌所致的胃炎和消化性溃疡等。

2）全身感染（systemic infection）：感染发生后，致病菌或其毒性代谢产物通过血液播散而引起全身急性症状。临床上常见类型有：

①毒血症（toxemia）：致病菌侵入宿主后，只在机体局部生长繁殖，不进入血循环，但其产生的外毒素入血，并经血液到达易感的组织细胞，引起特殊的临床症状。如白喉、破伤风等。

②内毒素血症（endotoxemia）：革兰阴性菌侵入血液，并在其中大量繁殖，死亡崩解后释放大量内毒素；也可由感染病灶内大量革兰阴性菌死亡后释放的内毒素入血所致。在严重革兰阴性菌感染时，可出现内毒素休克、DIC等症状，甚至死亡，如小儿急性中毒性细菌性痢疾。

③菌血症（bacteremia）：致病菌由局部侵入血液，但未在其中生长繁殖，只是短暂的一时性或间断性侵入血循环，到达体内适宜部位后再进行繁殖而致病，如伤寒、波浪热（布鲁菌病）等。

④败血症（septicemia）：致病菌侵入血液并在其中大量繁殖，产生毒性产物，造成机体严重

损害，出现全身性中毒症状，如高热、皮肤和黏膜淤血、肝脾肿大等，如鼠疫、炭疽、气性坏疽等。

⑤脓毒血症（pyemia）：化脓性致病菌从感染部位侵入血液，并在其中大量繁殖，通过血液扩散至宿主的其他组织或器官，产生新的化脓性病灶。例如，金黄色葡萄球菌的脓毒血症常导致皮下脓肿和肺脓肿等。

（3）带菌状态：有时宿主在显性或隐性感染后，致病菌并未立即消失，而在体内继续留存一定时间，与机体免疫力处于相对平衡状态，是为带菌状态，该宿主称为带菌者（carrier）。例如，伤寒、白喉患者等病后常可出现带菌状态。带菌者的共同特征是没有临床症状，但能不断或间歇排出致病菌，成为重要的传染源之一。

第四节 抗细菌免疫

人类的免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成。在抗感染过程中，各免疫器官、细胞和分子间相互协作、相互制约、密切配合，共同完成复杂的免疫防御功能。致病菌侵入人体后，首先遇到的是固有免疫的抵御。一般经7～10天后，才产生适应性免疫；然后两者配合，共同杀灭致病菌。

一、固有免疫

固有免疫（innate immunity），亦称天然免疫，是人类在长期的种系发育和进化过程中逐渐建立和完善的天然防御机制，是监视和清除任何致病菌的快速反应系统，担负人体“第一道防线”的作用，但并非针对某一特定致病菌，故又称为非特异性免疫（nonspecific immunity）。

固有免疫主要由物理屏障、化学屏障、微生物屏障和吞噬细胞、免疫分子等组成（图4-5），可阻止致病菌侵入体内，或者在致病菌在体内生长繁殖和造成感染之前将其破坏，从而抵御大多数致病菌的感染。与此同时，致病菌的菌体成分和毒性产物可诱发宿主免疫细胞释放多种细胞因子，其中，IL-1、IL-6、TNF-α等引起发热，IL-6等诱导产生急性期蛋白；激活补体旁路途径，产生C3a和C5a，继而促使肥大细胞和血小板等释放大量的生物活性介质，如组胺、5-羟色胺、前列腺素、缓激肽、白细胞三烯等，导致毛细血管通透性增加，血流量加快，以输送更多的吞噬细胞；IL-8、TNF-α、C3a和C5a等趋化因子招引吞噬细胞穿越毛细血管壁，移向并聚集到感染部位，诱发炎症反应（inflammatory response），出现红、肿、痛和发热等症状，以破坏入侵的致病菌。但过度的炎症反应可能给机体带来不利影响。

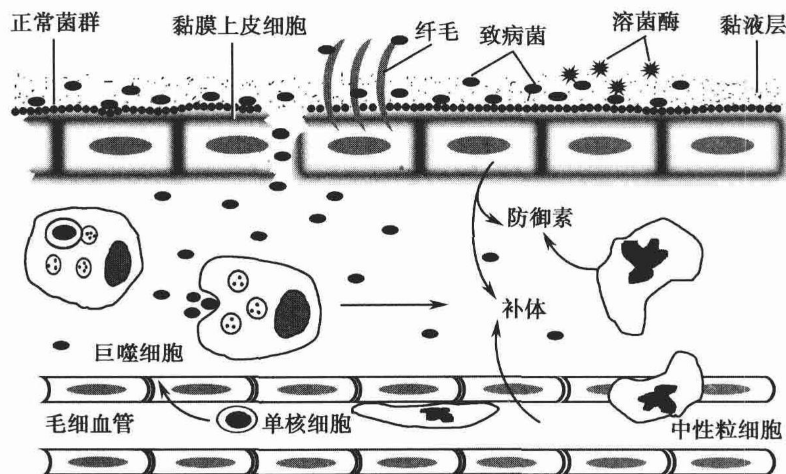


图4-5 人体固有免疫系统组成示意图

（一）屏障结构

人体与外界环境接触的表面，覆盖着一层完整的皮肤和黏膜。在宿主体内，部分细胞和组织及其活性产物也起到了阻挡致病菌的屏障作用。

1. 物理屏障

（1）皮肤与黏膜屏障：皮肤表皮层由较厚的结构致密的扁平上皮细胞组成，并含有不易被微生物降解的角蛋白（keratin），能阻挡致病菌的穿透。但是，当皮肤损伤时，细菌可侵入引起感染，如烧（烫）伤感染。黏膜仅为单层柱状上皮细胞，其机械性防御作用不如皮肤，但黏膜表面有多种附件和黏液层，以阻止致病菌的黏附定植。例如，呼吸道黏膜上皮的纤毛运动、口腔唾液的吞咽、肠蠕动和尿液冲洗等，可将入侵的致病菌不断地排出体外。

（2）血-脑脊液屏障：一般认为，血-脑脊液屏障由软脑膜、脉络丛的毛细血管内皮细胞和星状胶质细胞等组成，主要借助脑毛细血管内皮细胞层的紧密连接和微弱的吞饮作用，阻挡致病菌及其毒性产物从血液进入脑组织或脑脊液，从而保护中枢神经系统。婴幼儿的血-脑脊液屏障发育尚未完善，故易发生脑膜炎等中枢神经系统疾病。

（3）胎盘屏障：由母体子宫内膜的基蜕膜和胎儿绒毛膜组成，能阻止母体血液中的病原体及其有害产物进入胎儿体内。但母体在妊娠3个月内，由于胎盘屏障尚不完善，母体中的病原体有可能通过胎盘侵犯胎儿，干扰其正常生长发育，造成畸形、流产，甚至死亡。

2. 化学屏障

（1）皮肤黏膜分泌的杀菌物质：皮肤的汗腺分泌乳酸，使汗液呈酸性（pH5 ~ 6），并含有高浓度盐分，可抑制大多数致病菌的生长。皮脂腺分泌的脂肪酸和汗腺分泌的溶菌酶（lysozyme）具有杀菌作用。不同部位的黏膜能分泌溶菌酶（泪液、唾液、呼吸道分泌物）、胃酸（胃）、蛋白水解酶（口腔、肠道）、胆盐（小肠）等多种杀菌物质。胃腺能产生胃酸，进入胃中的细菌大多不能抵抗低酸环境（pH2 ~ 3）而被杀死。肠道的胆盐、蛋白水解酶和碱性环境可进一步杀灭进入肠道的外籍菌。

（2）抗菌肽（antibacterial peptide）：是由人和动物细胞产生的一类小分子多肽，是机体炎症反应的组成部分。人类有多种抗菌肽，其中以防御素（defensin）为主。防御素是一类富含精氨酸的阳离子多肽，可分为α-防御素和β-防御素二大类，主要由中性粒细胞、小肠潘氏细胞（Paneth cell）和上皮细胞产生。防御素是天然抗菌免疫中的直接效应分子，主要作用于胞外菌感染。其杀菌机制可能是：以疏水端插入致病菌细胞膜而形成跨膜离子孔道，造成细胞膜通透性增加，内外物质交换失控，故而细菌裂解死亡。

此外，正常血液和体液中尚有阳离子蛋白（cationic protein）、乙型溶素（β-lysin）、吞噬细胞杀菌素（phagocytin）、白细胞素（leukin）、乳铁蛋白（lactoferrin）、血小板溶素（plakin）等杀菌或抑菌物质。

（二）吞噬细胞

当致病菌突破宿主物理、化学和微生物屏障后，首先与致病菌接触并发动攻击的是吞噬细胞。吞噬细胞是固有免疫中最重要、最有效的防御组分，包括外周血中的中性粒细胞（neutrophil）、单核细胞（monocyte）和各种组织中的巨噬细胞（macrophage）。中性粒细胞是主要的吞噬细胞，在血液中仅存留6 ~ 12小时，即迅速进入感染或组织损伤部位。单核细胞在血液中存留数天后迁移至组织中，并分化为游走或固定的巨噬细胞，能存活数周至数月。

当致病菌穿透皮肤或黏膜到达体内组织后，中性粒细胞数量显著增加，率先从毛细血管中迅速逸出，聚集到致病菌所在部位。多数情况下，致病菌被吞噬消灭。少数未被吞噬的致病菌可随淋巴液经淋巴管到附近淋巴结，由淋巴结内的吞噬细胞吞噬和杀灭。一般只有毒力强、数量多的致病菌才有可能不被完全阻挡而侵入血液和内脏器官，再由各处的吞噬细胞继续吞噬杀灭。吞噬细胞能吞噬和杀灭大多数种类的致病菌，同时释放多种细胞因子，引发炎症反应。

1. 吞噬和杀菌过程　吞噬作用（phagocytosis）大致可分为以下四个阶段：

（1）游走（migration）：入侵的致病菌可刺激吞噬细胞、内皮细胞等产生趋化因子（chemokine，chemotactic factor），如IL-1、IL-8、TNF-α、中性粒细胞激活蛋白2（neutrophil activating protein-2，NPA-2）、巨噬细胞炎性蛋白（macrophage inflammatory protein，MIP）、单核细胞趋化蛋白（monocyte chemotactic protein，MCP）等，招引大量的中性粒细胞和单核细胞由毛细血管中央向边缘移动。吞噬细胞借助黏附分子（如整合素）与血管内皮细胞联结处的黏附分子（如选择素、细胞间黏附分子）相互作用，选择性地黏附于感染病灶的血管内皮细胞上，逐渐变平，以"滚动"（rolling）方式穿越毛细血管内皮细胞层，进入组织间隙中，并继续定向移动并聚集在感染部位。此外，细菌菌体成分或代谢产物、补体活化后的裂解产物C3a与C5a、炎症组织裂解产物等亦具有趋化作用。

（2）识别（recognition）：吞噬细胞、树突状细胞、黏膜上皮细胞等不表达特异性抗原受体，主要依靠"模式识别受体"（pattern recognition receptor，PRR），如Toll样受体（Toll-like receptor，TLR）、LPS受体（CD14分子）、甘露糖受体、"清道夫受体"（scavenger receptor）、核苷酸结合寡聚化结构域（nucleotide-binding oligomerization domain，NOD）样受体（NOD-like receptor，NLR）、RNA解旋酶视黄酸诱导基因1（retinoic-acid inducible gene 1，RIG1）样受体（RIG1-like receptor，RLR）等，识别病原微生物的"病原体相关分子模式"（pathogen-associated molecular pattern，PAMP），并与之结合（图4-6，表4-6）。

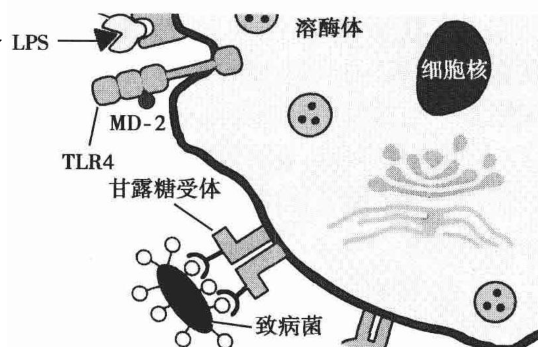


图4-6　吞噬细胞PRR识别结合致病菌PAMP示意图

表4-6　固有免疫中的模式识别受体与病原体相关分子模式

模式识别受体	病原体相关分子模式
膜型PRR	
TLR1	细菌脂蛋白
TLR2	细菌脂蛋白，肽聚糖，革兰阳性菌脂磷壁酸，某些病毒结构蛋白，真菌酵母多糖
TLR4	革兰阴性菌脂多糖（LPS），某些病毒结构蛋白，细菌热休克蛋白60
TLR5	细菌鞭毛蛋白
TLR6	真菌酵母多糖，细菌脂蛋白，肽聚糖
CD14分子	革兰阴性菌脂多糖（LPS）
甘露糖受体	细菌和真菌表面的甘露糖或岩藻糖样结构
清道夫受体	细菌脂蛋白，革兰阴性菌脂多糖（LPS），革兰阳性菌脂磷壁酸，磷脂酰丝氨酸
胞质型PRR	
TLR3	病毒双链RNA（dsRNA）
TLR7	病毒单链RNA（ssRNA）
TLR8	病毒单链RNA（ssRNA）
TLR9	细菌含未甲基化CpG基序的DNA片段
NLR1	革兰阴性菌肽聚糖降解产物二氨基庚二酸（DAP）
NLR2	细菌肽聚糖降解产物胞壁酰二肽（MDP）
RLR	病毒双链RNA（dsRNA）
分泌型PRR	
脂多糖结合蛋白	革兰阴性菌脂多糖（LPS）
甘露糖结合凝集素	细菌表面的甘露糖或岩藻糖样结构
C反应蛋白	细菌细胞膜磷脂酰胆碱

Toll样受体是细胞表面的跨膜信号受体，是启动免疫应答的关键分子和连接固有免疫与适应性免疫的纽带，主要分布于免疫细胞和黏膜上皮细胞上，在树突状细胞、巨噬细胞、B细胞等专职抗原提呈细胞表面的表达尤为丰富。迄今为止，已发现10多种Toll样受体，不同的Toll样受体可识别不同的PAMP。PAMP是指病原微生物的分子标志，为共有的高度保守的组分，如革兰阴性菌的脂多糖（LPS），为微生物生存和致病性所必需。PAMP仅由微生物产生，不存在于高等哺乳动物中，免疫系统可借此区分"自己"（self）与"非己"（non-self），即PAMP可作为病原微生物入侵的"危险信号"，诱发宿主免疫应答。

吞噬细胞依靠PRR可直接与致病菌的PAMP识别而结合。但吞噬细胞不能直接识别结合LPS。LPS需先与血清中的脂多糖结合蛋白（lipopolysaccharide binding protein，LBP）结合，再与吞噬细胞膜上的CD14分子结合，形成LPS-LBP-CD14复合物，为TLR4-MD2所识别（图4-6）。另外，吞噬细胞亦可通过调理素（opsonin）识别致病菌，即在特异性抗体产生前，通过其表面的C3b受体识别和结合C3b包被的致病菌；当特异性IgG类抗体产生后，其Fab段识别并结合致病菌，Fc段与吞噬细胞表面Fc受体结合，从而促进吞噬。

（3）吞入（ingestion）：吞噬细胞识别并结合致病菌后，细胞膜内陷，伸出伪足，将致病菌包围并摄入细胞内，形成由部分细胞膜包绕的内体（endosome）或吞噬体（phagosome）（图4-7）。

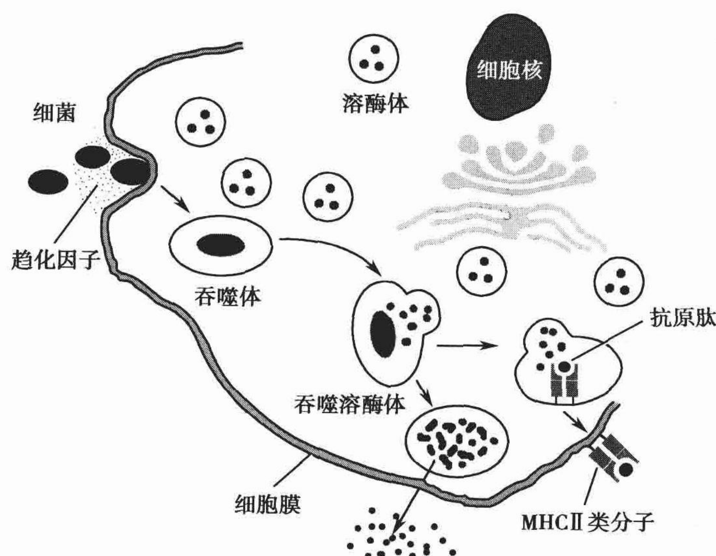


图4-7 吞噬细胞吞噬杀菌和抗原提呈示意图

（4）杀灭（killing）：当吞噬体形成后，溶酶体（lysosome）与之靠近、接触，两者融合成吞噬溶酶体（phagolysosome）。此时，吞噬细胞从有氧呼吸转换为糖酵解作用，产生大量乳酸，使吞噬溶酶体内酸化（pH3.5～4.0），从而抑制致病菌的生长，并增强多种溶酶体酶的活性。溶酶体内的溶菌酶、髓过氧化物酶（myeloperoxidase）、阳离子蛋白、乳铁蛋白、防御素、反应性氧中介物（reactive oxygen intermediate）和反应性氮中介物（reactive nitrogen intermediate）等可杀死致病菌，而蛋白水解酶、多糖酶、核酸酶、脂酶等能降解菌体成分，绝大部分降解产物以胞吐方式排至吞噬细胞外，但有些被加工处理成抗原肽（表位），形成抗原肽-MHC Ⅱ类分子复合物，表达于巨噬细胞膜表面，提呈给$CD4^+$T细胞识别，启动适应性免疫应答（图4-7）。

目前认为，吞噬细胞的杀菌机制主要有：

1）氧依赖性杀菌系统：致病菌与吞噬细胞接触并进入胞内后，引起呼吸爆发（respiratory burst），氧消耗量急剧上升，众多氧依赖性酶的活性增强，产生大量ATP以发动吞噬，同时将大量的O_2还原成多种高效反应性氧中介物，如超氧阴离子（O_2^-）、过氧化氢（H_2O_2）、单态氧（$^1O_2$）、

游离羟基（OH^-）等。O_2^-和H_2O_2对细菌有直接杀伤作用，$^1O_2$和OH^-均属作用短暂的强氧化剂，能严重破坏细菌的DNA、膜脂类和蛋白质。在酸性条件下，髓过氧化物酶利用H_2O_2和氯化物，产生HOCl和NH_2Cl，两者通过卤化作用破坏菌体蛋白。

2）氮依赖性杀菌系统：激活的吞噬细胞产生NO合成酶，合成反应性氮中介物NO。NO具有高度抗菌活性，当与O_2^-结合后可转化成NO_2^-和NO_3^-，主要在厌氧条件下发挥效应，具有更强大的抗菌作用。

3）氧非依赖性杀菌系统：即不需要分子氧参与的杀伤机制。溶酶体内的溶菌酶、阳离子蛋白、蛋白水解酶、防御素、乳铁蛋白、核酸酶、脂酶和吞噬溶酶体内的酸性产物等具有一定的杀菌作用。

2. 吞噬作用的后果　吞噬细胞吞噬致病菌后，其后果随细菌种类、毒力和宿主免疫力不同而异，一般有两种结局：

（1）完全吞噬：正常情况下，大多数细菌会被吞噬杀灭，称为完全吞噬。例如，大多数化脓性球菌被吞噬后，一般在5～10分钟内死亡，30～60分钟内被完全破坏。

（2）不完全吞噬：结核分枝杆菌、嗜肺军团菌等胞内菌在免疫力缺乏或低下的宿主中，虽被吞噬却未被杀死，称为不完全吞噬。不完全吞噬可使致病菌在吞噬细胞内得到保护，免受体液中非特异性抗菌物质、特异性抗体或抗菌药物等作用。有的致病菌甚至能在吞噬细胞内生长繁殖，最终诱导吞噬细胞凋亡；或者随游走的吞噬细胞经淋巴液或血液扩散到人体其他部位，造成广泛病变。此外，吞噬细胞在吞噬过程中，溶酶体释放出的多种酶也能破坏邻近的正常组织细胞，造成组织的免疫病理性损伤和炎症反应。

（三）免疫分子

（1）补体（complement）：是机体重要的免疫效应分子。在感染的早期，即抗体尚未产生之前，补体系统可通过旁路途径（alternative pathway）或甘露糖结合凝集素（mannan-binding lectin，MBL）途径，由细菌肽聚糖、甘露糖残基、脂多糖等激活。在感染的中、晚期，即抗体产生之后，免疫复合物可激活补体的经典途径（classical pathway）（图4-8）。补体系统激活后可产生多种生物活性产物，主要作用有：①溶菌和溶解靶细胞：膜攻击复合体（membrane attack complex，MAC）即C5b6789可溶解破坏靶细菌和胞内菌感染细胞；②调理作用：C3b和C4b可作为调理素，与致病菌结合后，可被具有相应受体的吞噬细胞识别结合，增强吞噬作用；③介导炎症反应：C3a和C5a具有趋化作用，募集大量的吞噬细胞聚集到感染部位；能刺激肥大细胞、血小板等释放组胺、前列腺素、激肽等生物活性介质，增加血流量和毛细血管通透性，介导炎症反应的发生。

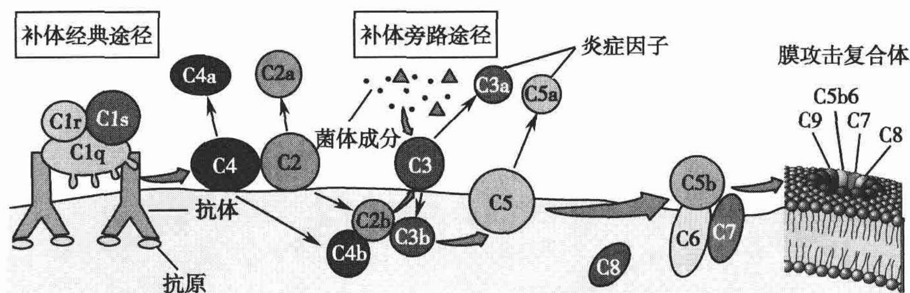


图4-8　补体经典途径的激活过程示意图

（2）细胞因子：IL-1、IL-6和TNF-α等可引起发热和炎症反应；IL-8可趋化和激活中性粒细胞；IL-6可诱导肝细胞合成和分泌急性期蛋白，引起急性期反应等。

（3）急性期蛋白（acute-phase protein）：是在细菌脂多糖、IL-6等刺激下，主要由肝细胞产生的一组血浆蛋白，包括C-反应蛋白（C-reaction protein，CRP）、脂多糖结合蛋白（LBP）、甘露糖结合凝集素（mannose-binding lectin，MBL）、血清淀粉样蛋白A（serum amyloid A protein，SAA）和蛋白酶抑制剂等。急性期蛋白最主要功能是最大限度地激活补体系统和调理吞噬入侵的致病菌，

引发炎症反应。蛋白酶抑制剂可抑制吞噬细胞所释放酶类的活性，减少由致病菌感染所致的组织损伤。

二、适应性免疫

如果致病菌一旦突破宿主“第一道防线”，就有可能引起感染性疾病，与此同时诱发适应性免疫（adaptive immunity）应答，以最终清除致病菌。适应性免疫又称获得性免疫（acquired immunity），是个体出生后，在生活过程中与病原微生物及其代谢产物等抗原接触后产生的，或通过人工免疫而获得的免疫防御功能，担负人体“第二道防线”的作用，仅对诱发免疫力的相同致病菌起作用，故亦称为特异性免疫（specific immunity）。适应性免疫可分为黏膜免疫（mucosal immunity）、体液免疫（humoral immunity）和细胞免疫（cellular immunity）。

黏膜免疫　黏膜免疫系统又称为黏膜相关淋巴组织（mucosal associated lymphoid tissue，MALT），主要是指呼吸道、消化道及泌尿生殖道黏膜上皮内和黏膜下固有层中弥散的无被膜淋巴组织，以及某些带有生发中心的器官化淋巴组织，如扁桃体、小肠派氏小结（Payer's patches）和阑尾。黏膜免疫的诱导部位主要是派氏小结，效应部位主要是黏膜上皮内或黏膜下固有层（图4-9）。

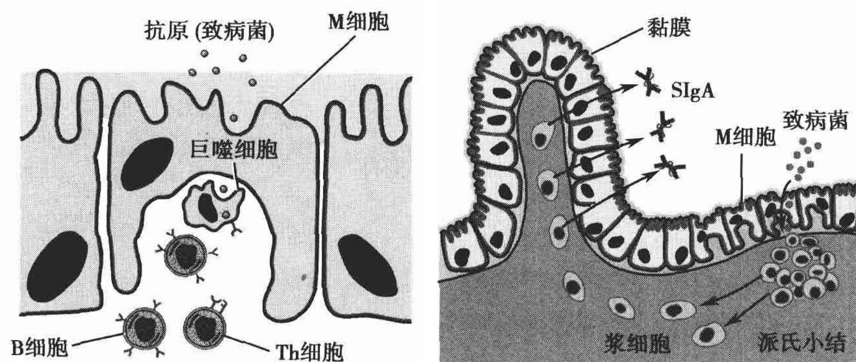


图4-9　黏膜免疫中M细胞的功能示意图

M细胞（microfold cell：微皱褶细胞）为特化的上皮细胞，散布于黏膜上皮细胞之间，是启动黏膜免疫的关键细胞。当致病菌经黏膜入侵后，M细胞可作为抗原捕获细胞或抗原转运细胞（antigen transporting cell），以吞饮方式将致病菌等抗原吞入胞内，跨上皮转运至黏膜下固有层，供巨噬细胞或树突状细胞所摄取。在派氏小结内，抗原提呈细胞、T细胞、B细胞等发生相互作用，B细胞活化、增殖、分化为浆细胞（plasma cell），合成和分泌大量特异性抗体（antibody），其中主要是IgA，与分泌片结合后成为分泌型IgA（SIgA），可第一时间阻断致病菌在黏膜上皮细胞表面的黏附与定植（图4-9）。由于绝大多数细菌感染是从黏膜侵入或仅发生在黏膜局部，故黏膜免疫在抗菌免疫中的作用备受关注。

体液免疫　是指由B细胞（或特异性抗体）介导的免疫应答，主要作用于胞外菌及其毒素。当机体受到某些致病菌和（或）其产物刺激后，在$CD4^+$ Th2细胞辅助下，B细胞活化、增殖、分化为浆细胞。随抗原性质、进入途径、应答过程等不同，浆细胞可合成和分泌IgG、IgM、IgA、IgD和IgE五类免疫球蛋白（抗体）。大多数宿主血清中约80%免疫球蛋白是IgG。根据它们在抗菌免疫中的作用，可分为抗菌抗体（调理素）和抗外毒素抗体（抗毒素）。

细胞免疫　是指由T细胞介导的免疫应答，在抵御胞内菌感染中起主要作用。当某些胞内菌侵入人体后，经抗原提呈细胞加工处理后，形成抗原肽（表位）-MHC分子复合物，提呈给T细胞识别，在多种细胞间黏附分子和细胞因子（如IL-2）协同作用下，T细胞活化、增殖、分化为效应T细胞，主要是$CD4^+$ Th1细胞和细胞毒性T细胞（cytotoxic T lymphocyte，CTL）。其中，$CD4^+$ Th1细胞可诱发慢性炎症反应或迟发型超敏反应，杀死可逃避抗体攻击的胞内菌；CTL可特异、高效、连续地

杀死胞内菌感染的靶细胞。

三、抗细菌感染的免疫特点

1. 抗胞外菌感染的免疫 胞外菌（extracellular bacteria）寄居在宿主细胞外的组织间隙和血液、淋巴液、组织液等体液中。大多数致病菌属胞外菌，主要有金黄色葡萄球菌、肺炎链球菌、淋病奈瑟菌、产气荚膜梭菌、流感嗜血杆菌等。胞外菌的致病机制主要是：①产生内、外毒素等毒性物质；②引起炎症反应。

吞噬细胞（中性粒细胞、单核细胞和巨噬细胞）是杀灭和清除胞外菌的主要力量，黏膜免疫和体液免疫是抗胞外菌感染的主要免疫机制（图4-10）。特异性抗体的作用有：

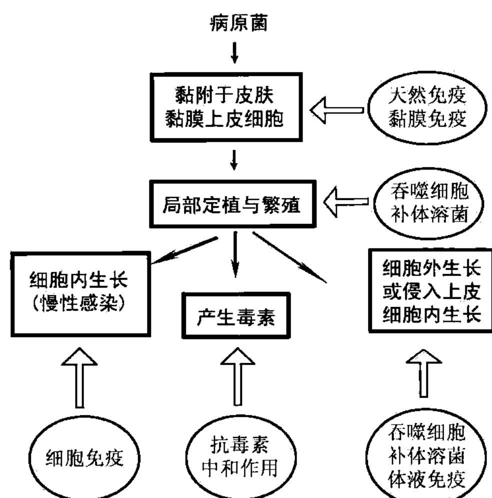


图4-10 致病菌感染过程和宿主免疫防御机制

（1）阻断致病菌黏附与定植：黏膜免疫系统可产生SIgA，释放到多种黏膜分泌液如唾液、泪液、乳汁中。SIgA在黏膜表面与入侵的相应致病菌表面抗原（如鞭毛、菌毛）结合后，可阻断致病菌在黏膜上皮细胞表面的黏附与定植。乳汁中的SIgA可将母体有关抗体传递给新生儿，保护新生儿免受感染。

（2）中和外毒素：抗毒素与外毒素（如白喉毒素、破伤风痉挛毒素、肉毒毒素）结合后，可封闭外毒素的活性部位，或阻止其与靶细胞表面的相应受体结合，从而中和外毒素的毒性作用。

（3）调理作用：无荚膜的致病菌易被吞噬杀灭，而吞噬杀伤有荚膜的致病菌则需要抗荚膜抗体的参与。IgG类抗体可作为调理素，其Fab段与致病菌或抗原表位结合，Fc段与中性粒细胞和巨噬细胞表面的Fc受体结合，促进吞噬作用，即调理作用（opsonization）。

（4）激活补体：IgM、IgG类抗体与致病菌结合后形成免疫复合物，可激活补体经典途径，形成终末膜攻击复合体（MAC），导致细菌溶解；补体激活过程中产生的C3a、C5a等能介导炎症反应；C3b、C4b可覆盖于致病菌表面，并与吞噬细胞上的补体受体CR1和CR3结合，增强调理吞噬作用。补体与抗体两者联合，则调理作用更强。

（5）抗体依赖性细胞介导的细胞毒效应：IgG类抗体的Fab段与靶细胞表面的相应抗原（表位）结合后，其Fc段与NK细胞等表面的Fc受体结合，增强或触发NK细胞对靶细胞的杀伤作用，称之为抗体依赖性细胞介导的细胞毒效应（antibody dependent cell-mediated cytotoxicity，ADCC），主要是破坏胞内菌感染细胞。

参与胞外菌免疫应答的T细胞主要是$CD4^+$ Th2细胞。除了辅助B细胞对胸腺依赖性抗原（TD-Ag）产生抗体外，$CD4^+$ Th2细胞尚能产生IL-4、IL-5、IL-6、IL-10等Th2型细胞因子，促进巨噬细胞的吞噬和杀伤，招引和活化中性粒细胞等，引起局部炎症反应，以阻止致病菌从感染部位扩散。但是，若产生过量的细胞因子，则可造成严重的宿主组织损伤。

有些胞外菌与人体某些细胞组织存在着交叉抗原，这些致病菌诱生的抗体有可能与人体细胞组织发生交叉反应，引起Ⅱ型和（或）Ⅲ型超敏反应，造成组织损伤而致病。最具代表性的疾病是A群溶血性链球菌感染后的风湿热和肾小球肾炎。

2. 抗胞内菌感染的免疫 胞内菌（intracellular bacteria）可分为兼性（facultative）和专性（obligate）两类。兼性胞内菌在宿主体内，主要寄居在细胞内生长繁殖；在体外，亦可在无活细胞的适宜环境中生存和繁殖。医学上重要的兼性胞内菌有结核分枝杆菌、伤寒沙门菌、布鲁菌、嗜肺军团菌、产单核细胞李斯特菌等。专性胞内菌则不论在宿主体内或体外，都只能在活细胞内生长繁殖。立克次

体、衣原体等属于专性胞内菌。

由于特异性抗体不能进入胞内菌寄居的吞噬细胞内与之作用，故体液免疫对胞内菌感染作用不大，主要依靠以T细胞为主的细胞免疫，主要包括：① $CD4^+$ Th1细胞：分泌IL-2、IL-12、IFN-γ、TNF-β等Th1型细胞因子。IFN-γ是巨噬细胞最强的激活因子，可增强其吞噬杀菌能力，并可诱导MHC Ⅱ类分子表达，增强其抗原提呈能力。巨噬细胞活化后释放的IFN-γ、IL-1、IL-6和溶酶体酶等为重要炎性因子，可促进感染部位的血管内皮细胞黏附分子的表达，募集大量的吞噬细胞移向炎症部位，在局部组织产生以淋巴细胞和单个核细胞浸润为主的慢性炎症反应或迟发型超敏反应（delayed-type hypersensitivity），有利于对胞内菌的清除；② CTL：能分泌穿孔素（perforin），直接破坏胞内菌感染细胞；亦可分泌颗粒酶（granzyme），或高表达FasL和TNF-α，激活半胱天冬氨酸蛋白酶，诱导受感染的靶细胞发生凋亡，释放出致病菌，再由抗体或补体等调理后，由吞噬细胞吞噬消灭（图4-11）。



图4-11 效应性T细胞产生效应分子示意图

第五节 医院感染

医院感染（nosocomial infection），又称医院获得性感染（hospital acquired infection），主要是指患者在住医院期间接受诊断、治疗、护理时获得的感染。若患者在入院前已经感染，但尚处于潜伏期，住院后才发病的则不属于医院感染。目前，医院感染发生率高达5%~20%，已成为全球性公共卫生问题。2003年，在我国等多个国家和地区发生严重急性呼吸综合征（severe acute respiratory syndrome，SARS）暴发流行，造成大量医务人员感染，使人们更加认识到控制医院感染的重要性和迫切性。

一、常见病原体及其特点

随着治疗方法、药物种类、诊断技术的发展变化，医院感染的病原体种类亦相应改变。革兰阴性杆菌感染发生率超过50%。细菌生物被膜菌的感染发生率也不断攀升，主要引起慢性和难治性感染。真菌感染亦逐年增长，至20世纪90年代中期已占病原体的15%，主要是白假丝酵母。医院感染大多由单一病原体引起（表4-7）。

表4-7 医院感染的常见病原体

感染部位	常见病原体
肺部感染	铜绿假单胞菌、肺炎克氏菌、阴沟肠杆菌、金黄色葡萄球菌、嗜肺军团菌
泌尿道感染	大肠埃希菌、表皮葡萄球菌、粪肠球菌、铜绿假单胞菌、白假丝酵母
感染性腹泻	
非侵袭型腹泻	霍乱弧菌、肠产毒素性大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌
侵袭型腹泻	志贺菌、鼠伤寒沙门菌、空肠弯曲菌、肠出血性大肠埃希菌
手术伤口感染	金黄色葡萄球菌、凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌、甲型链球菌、铜绿假单胞菌、克雷伯菌属、脆弱类杆菌
与输血相关的传染病	人类免疫缺陷病毒、丙型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、梅毒螺旋体

在我国，医院感染最常发生的部位依次是下呼吸道感染、泌尿道感染、术后切口感染、胃肠道感染、其他部位感染。

引起医院感染的常见病原体具有以下特点：

（1）大多为机会致病菌：引起医院感染的病原微生物多种多样，但更多的是患者体内的毒力较低的机会致病性微生物，如凝固酶阴性葡萄球菌、大肠埃希菌、白假丝酵母等，以及来自医院环境中的非致病性微生物。

（2）具有耐药性：由于在医院环境内长期接触大量抗生素，医院内耐药菌的检出率远比社区高，尤其是多重耐药菌株的出现，使许多抗生素失效。对于同一种细菌，在医院内和医院外分离的菌株有不同的耐药性，前者耐药性较强和涉及抗菌药物的种类较广。

（3）具有特殊的适应性：一些细菌在获得耐药性质粒的同时，也可能获得侵袭力及毒素基因，从而增强其毒力，更容易攻击免疫力低下的宿主。表皮葡萄球菌、铜绿假单胞菌等具有黏附于插（导）管、人工瓣膜等医用材料表面的能力，可形成生物被膜，增强对抗生素、消毒剂和机体免疫细胞及免疫分子的抵抗能力。如果医疗材料受到细菌生物被膜污染，可使开心手术和插静脉导管的患者出现败血症、感染性心内膜炎等。

二、医院感染的类型

根据感染来源的不同，可将医院感染分为外源性感染（exogenous infection）和内源性感染（endogenous infection）两大类。

1. 外源性感染

（1）交叉感染（cross infection）：由医院内患者、病原携带者或医务人员直接或间接传播引起的感染。患者和病原携带者体内的病原微生物以自然或人为方式排出，一旦侵袭适当的宿主（主要是患者）即可引起感染。例如巨细胞病毒感染者如作为供肾者，可使受肾者发生感染。

（2）医源性感染：在治疗、诊断和护理过程中，由于所用器械消毒不严或医护用品被污染而引起的感染。在医院干燥环境中常存在有金黄色葡萄球菌、表皮葡萄球菌、粪肠球菌和结核分枝杆菌，非发酵革兰阴性杆菌（如铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌、军团菌等）和肠道杆菌（如产气肠杆菌、黏质沙雷菌）等常存在于医院的公共设施，如肥皂盒中液体、水池，甚至空调机等处。如果将细菌生物被膜污染的各种插入性诊疗器材接触机体内的组织或无菌部位，亦可造成感染。

2. 内源性感染　患者自身的正常菌群也可因菌群失调或定位转移而引起医院感染。例如，寄居在肠道或口咽部的机会致病菌侵入肺部引起的医院获得性肺炎；由尿道口处的细菌经导尿管上行后可引起的尿路感染。

三、医院感染的传播途径

医院感染的传播途径与医院的特殊环境、治疗患者的手段以及医护人员等都密切相关。

1. 接触传播

（1）直接接触传播：在医院，患者之间、患者与医护人员之间通过直接接触，易发生医院感染，如痢疾志贺菌、甲型肝炎病毒等引起的消化道感染。

（2）间接接触传播：这是目前医院感染的主要传播方式，主要是经医护人员的手、医疗器械（尤其是反复使用的、消毒不易彻底的器械）、患者的生活用具等传播。在现代医院，侵入性诊治手段甚多，如插（导）管及内镜的使用、穿刺、注射、血液或腹腔透析、外科手术、器官移植、介入性治疗、呼吸机的使用等，均有可能将病原微生物直接带入患者体内，也可使患者自身的微生物转移至外籍生境或无菌部位，引起医院感染，如导尿相关性感染、内镜相关性感染等，尤其是细菌生物被膜引起的移植和介入治疗术后感染日益增多。

2. 空气-飞沫传播　患者排泄物和分泌物（如飞沫、痰液、脓汁和粪便等）携带大量的微生物，

可严重污染医院空气。许多呼吸道传染病，如流行性感冒、严重急性呼吸综合征和肺结核等，可经空气或飞沫传播。雾化器、湿化器等吸入治疗装置内的液体若被致病菌污染，也可发生感染。空调系统形成的气溶胶若被嗜肺军团菌污染，可发生军团菌性肺炎。

3. 血液-体液传播　供静脉滴注的液体若被细菌（如表皮葡萄球菌、粪肠球菌、大肠埃希菌、阴沟肠杆菌）及真菌等污染，可引起原发性菌血症。

此外，食用被致病菌污染的饮水、食物以及口服药物亦可引起医院感染。

四、医院感染的危险因素与防治原则

医院患者绝大多数是婴幼儿和老年人。婴幼儿由于免疫器官尚未发育完善，免疫功能处于未完全成熟状态。老年人免疫水平随着寿命的延长却相应地呈下降趋势，并可能患有免疫受损的基础性疾病，如糖尿病、肾脏疾病恶性、肿瘤与血液病等，对微生物感染的抵抗力较青年人和中年人低。因此，婴幼儿和老年人较易发生医院感染。现代医疗手段的应用，如接受激素、免疫抑制剂、化疗和放疗，以及介入性诊治手段，如各种插管、内镜、器官移植、血液透析、留置导尿和人工机械辅助通气等，使医院患者免疫防御功能受损的机会增加，受到机会致病菌感染的机会亦相应增加，尤其是抗菌药物的不合理应用，可导致微生态失调而出现二重感染。

医院感染在病原学、流行病学、临床和诊断学等方面都与社区感染有显著差别，因此，在诊断、治疗、预防和控制医院感染上应与社区感染有所区别。控制医院感染的关键措施是清洁、消毒、无菌技术、隔离、净化、合理使用抗生素、尽量减少侵袭性操作、一次性使用医用器具、监测和通过监测进行效果评价。其中，手部卫生（hand hygiene）如洗手最为重要，是阻断医护人员经操作导致在患者之间传播疾病的关键环节。

展　　望

人体微生态系统是一个复杂多样的有机整体，正常菌群之间、正常菌群与宿主之间通过信息、物质和能量的流动，相互作用、相互依存和相互制约，可有效地拮抗病原微生物的黏附与定植，维持人体微生态平衡和内环境的稳定。实施人类宏基因组计划（human metagenome project），即测定人体正常菌群的基因组DNA序列，研究正常菌群与人体发育和健康有关的基因功能，将为认识生命和感染性疾病的本质提供全新的视角，更好地采用“杀菌和促菌”并重的抗感染策略来防治微生态失调，降低医院感染的发生率和病死率。

细菌的毒力和致病性是多因素共同作用的结果，涉及致病菌与宿主细胞上众多分子的相互作用。细菌致病基因可分为两大类：①毒力基因：编码产物能与宿主细胞相互作用，直接引起宿主细胞组织损伤，且在非致病菌中不存在，如毒素基因；②毒力相关基因：编码产物有利于致病菌在宿主细胞内存活，调节毒力基因的表达（如密度感应系统、二元信号转导系统）或参与毒力因子的修饰、加工及分泌（如Ⅰ～Ⅴ型分泌系统）等。其中，二元信号转导系统（two-component signal transduction system）由组氨酸蛋白激酶（感受器）和反应调控蛋白（反应调节器）组成，是致病菌监测宿主体内环境刺激信号、调节自身功能并协调表达毒力因子的枢纽系统。毒力及毒力相关因子能有序地与宿主细胞发生相互作用，最终建立感染。细菌致病基因可以致病岛的形式整合于染色体DNA中，能在种群间发生水平传播，从而增强致病菌在特定环境下（如宿主体内环境、抗生素选择压力）的适应优势，可能产生新的致病菌。随着致病菌基因组测序的完成，以及功能基因组学、比较基因组学及细胞微生物学等研究方法的发展，将会有更多的新的致病基因和毒力因子得以鉴定，致病菌与宿主细胞相互作用的分子机制得以阐明，为抗菌药物的筛选提供新靶标。

揭示细菌黏附、侵袭和毒素作用的分子机制，将为细菌感染性疾病的防治提供重要理论依据。近年发现，细菌感染性疾病绝大多数与细菌生物被膜的形成有关。被膜菌耐药性极强，并可逃避

宿主免疫防御机制，引起难治性感染。生物被膜的形成主要受到“密度感应系统”（quorum-sensing system）的调控，即细菌通过分泌和感应特定信号分子的浓度，监视或感应周围环境中同类或其他细菌的数量，对环境变化作出相应的反应。例如，革兰阴性菌大多以自诱导分子（autoinducer）*N*-酰基高丝氨酸内酯（*N*-acylhomoserine lactone）作为信号分子。信号分子浓度随细菌密度的增加而上升，当达到一个阈值时，提示细菌密度已达到一个危险水平，细菌立即启动密度感应基因（quorum-sensitive gene）的表达，促进生物被膜的形成或微菌落的解体，调控细菌毒力因子的表达，协调菌群的生物学行为，以避免细菌过度生长而造成空间和营养物质的缺乏，从而更好地适应外界环境的变化，增强细菌群体的生存能力。可见，阻断或干扰密度感应系统的的信号转导，抑制生物被膜的形成，可有效地控制生物被膜相关感染。内毒素休克是临床常见的危重综合征，其发生机制可能是，固有免疫细胞上跨膜受体TLR4-MD-2识别血清中LPS-LBP-CD14分子复合物后，经跨膜信号转导，过度刺激单核-巨噬细胞等，产生超量的多种细胞因子和炎症介质（主要是IL-1、TNF-α），诱发高热、低血压和多器官功能障碍综合征等。拮抗或中和内毒素（LPS），阻断TLR与LPS相互作用引发的信号转导，将为内毒素休克的治疗提供新思路。此外，基因重组免疫毒素用于肿瘤靶向治疗的研究备受关注。

近年来，固有免疫识别的分子机制已成为研究热点。固有免疫细胞可通过模式识别受体（PRR）直接识别病原体相关分子模式（PAMP），诱发细胞内信号级联反应，启动免疫应答相关基因转录，产生效应分子，以迅速吞噬和清除入侵的致病菌及其毒素，引发炎症反应。与此同时，向抗原提呈细胞发出预警信号，启动适应性免疫应答。其中，Toll样受体（TLR）是最重要的PRR，能及时感知细菌感染等危险信号。揭示TLR及其配体的结构、信号通路和功能，将为感染性疾病的防治提供理论基础和新的药物靶点。

（龙北国　贾文祥）

第五章　细菌感染的检测方法与防治原则

病原微生物感染的诊断除根据临床症状、体征和一般检验外，还需进行医学微生物学的检测。通过病原体的分离鉴定及检测患者的免疫应答等，以达到对感染性疾病作出病原学诊断，同时为临床进行合理的用药与预防提供依据。

细菌感染的微生物学检查程序的基本原则包括标本的正确采集、标本的直接检查、病原菌的分离培养与鉴定和血清学试验等。在实际工作中，可根据具体情况选用相应的实验技术和方法。

对细菌感染性疾病的预防主要是靠特异性预防，即接种疫苗、类毒素等制剂。用于人工免疫的疫苗、类毒素、免疫血清、细胞制剂，以及诊断的用品（结核菌素、诊断血清、诊断菌液）等生物性制剂统称为生物制品。对细菌感染性疾病的治疗主要有抗菌药物如抗生素等。这些方法的使用对控制感染性疾病起到了重要的作用。

Infectious diagnosis of pathogenic microorganism need check its characteristics of medical microbiology besides clinical symptom, physical sign and general check. Diagnostic medical microbiology is concerned with the etiologic diagnosis of infectious disease by means of the isolation and identification of infectious agents, the demonstration of immunological response, and with the rational selection of pharmacotherapy and prophylaxis on the basic of laboratory tests.Many microbes are human pathogens, and laboratory acquired infections may occur; therefore we must stress the importance to laboratory biosafety.

The basic principle of bacterial infectious agents in humans include the properly specimen collection and direct examination, culture isolation and identification of bacterium, serologic test, etc. Additionally, experimental technology and method should be selected by specific condition.

The prevention to bacterial infections depends on specificity prevention . which can injected praeparatum (vaccine and toxoid) . Biological praeparatum which include vaccine, toxoid, immune serum, cell praeparatum, and diagnostic praeparatum (tuberculin, diagnostic serum, diagnostic bacterial liquid), are called biological substance. The therapy to bacterial infection is antibacterials such as antibiotics. These methods play a very important role in controlling infectious diseases.

第一节　细菌感染的检测方法

感染性疾病应根据临床症状诊断，采集不同标本和选择敏感特异的检查方法进行实验室诊断，其目的是为临床治疗和防护提供依据。主要包括标本直接检查、细菌分离培养与鉴定和血清学诊断等三方面，其检测程序如图5-1。

一、标本的采集与送检

标本采集与送检质量会直接影响到致病菌检出的成败，因此应遵循下列几个原则：

1. 采取标本时应注意无菌操作，尽量避免其他菌群的污染。

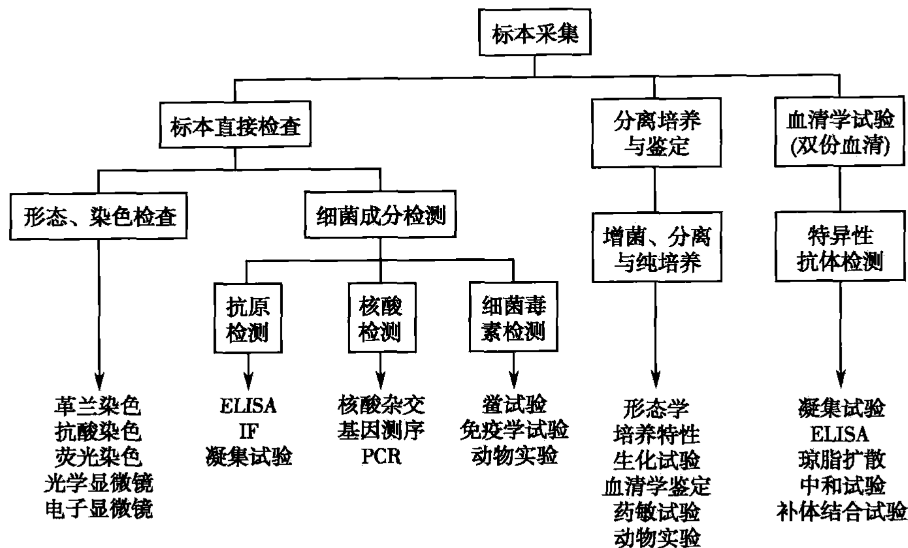


图5-1 细菌感染的检验程序

2. 根据患者不同病程，致病菌在体内分布的不同，采取相应标本。例如流行性脑膜炎患者根据病程可取脑脊液、血液或出血瘀斑；伤寒患者在病程1～2周内取血液，2～3周时取粪和尿。

3. 尽可能在使用抗菌药物之前采集标本。否则在分离培养时，要在标本中加入药物拮抗剂，如使用青霉素的加青霉素酶、使用磺胺药的加对氨苯甲酸。

4. 标本必须新鲜，采集后尽快送检。厌氧菌对氧敏感，暴露在空气中容易死亡， 采集后应立即排除空气，转移至特制的厌氧标本瓶中尽快送检。

5. 送检过程中，除不耐寒冷的脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌等要保暖外，多数菌可冷藏送运。粪便标本中含杂菌多，常置于甘油缓冲盐水保存液中。

此外，伴随送检单，应尽可能多的提供送检标本的背景材料，如患者近期的旅游史，与流行病的关系，重要的病历及最近的治疗情况等，以有助于检验结果的分析。对怀疑为高危传染病患者的标本，特别是血液和体液标本，在采集、运送和处理标本时应考虑生物安全（biosafety），做好对操作人员保护，如艾滋病患者标本等。

二、标本直接检查

尽管细菌的分离培养鉴定是病原学诊断的金标准，但要早期诊断，必须重视标本的直接检查，其中包括细菌的形态学检查和细菌成分的直接检出。

（一）形态学检查

1. 直接涂片镜检　在显微镜下直接观察细菌的形态、大小、排列等，经染色后观察可判断其染色性（如革兰阳性或阴性、抗酸性或非抗酸性），不染色标本可观察细菌的动力，如霍乱弧菌可出现典型的“鱼群”样排列和穿梭样的活泼运动。形态学检查直接简便和快速，适于来自特定部位的标本和具有特征性形态染色的病原菌。如脑脊液涂片中查见革兰阴性呈肾形的双球菌，尤其在中性粒细胞内查见胞内型双球菌，可初步判断为流行性脑脊髓膜炎；如在泌尿生殖道分泌物中查见相似的双球菌，则可结合临床症状等诊断为淋病奈瑟菌感染。另外，如在呼吸道分泌物中查见红色细长弯曲呈分枝状的抗酸菌，结合临床症状可初步诊断为结核分枝杆菌感染。具有芽胞、鞭毛和荚膜等特殊结构的细菌，在特殊染色下观察更具诊断意义。

2. 荧光显微镜或电子显微镜等特殊检查　用金胺对结核分枝杆菌进行染色，在荧光显微镜下可观察到呈金黄色荧光的菌体，此法可提高结核分枝杆菌的检出率。细菌的形态学检查仅用普通光学显微镜即可，一般不需用电子显微镜进行细菌性感染的诊断，但电子显微镜可使细菌形态学的检查

从细胞水平提高到亚细胞水平，并向分子生物学水平过渡，对研究细菌学的遗传变异、生理生化、传染和免疫等特性具有重要作用。

（二）细菌成分检测

检出细菌成分，尤其是对该菌具有标志性信号的成分，如细菌的特异性抗原，编码某特异性抗原的一段核酸序列，细菌所产生的某种毒素等，均可作为识别该菌和判定其致病性的根据。

1. 抗原的检测　标本中细菌特异性抗原的检出可作为感染的早期诊断。方法有玻片凝集试验、协同凝集试验、乳胶凝集试验、免疫沉淀（琼脂扩散和对流免疫电泳等），但最常用的是酶联免疫技术（ELISA法）、免疫荧光技术和放射性免疫核素技术。这些试验方法特异、敏感、简便、快速。

2. 核酸的检测　决定细菌特性的遗传信息位于细菌的基因组内，包括细菌的染色体DNA和染色体以外的遗传物质（plasmid DNA、mRNA和16S ~ 23S rRNA等）。不同种的细菌具有不同的基因或碱基序列，故可通过检测细菌的特异基因序列的存在与否，亦称作基因诊断来判定细菌性感染。此法比免疫学技术更加特异和敏感。

（1）核酸杂交（nucleotide hybridization）：核酸分子杂交是根据DNA双螺旋分子的碱基互补原理而设计的。先根据某菌的特异性核酸序列设计合成探针（probe），与待检标本中提取的核酸进行杂交，若样本中有与探针序列完全互补的核酸片段，根据碱基互补原则，标本中相对应的核酸片段会与标记有化学发光物质、放射性核素或辣根过氧化物酶、地高辛的探针结合，经不同方法即可检测出标本中有相应病原菌基因。核酸杂交技术包括：斑点杂交、原位杂交和印迹杂交等。

（2）PCR技术：是一种选择性DNA或RNA片段的体外扩增技术，当标本中病原体太少，用核酸电泳或核酸杂交的方法检测不到靶序列时，可提取带有靶序列的DNA作模板，在有引物，耐热DNA聚合酶（Taq酶）、脱氧核苷酸（dNTP）存在下，经热变性（模板解链）、降温复性（退火），引物与单链靶序列的两端结合，最后由热稳定的DNA聚合酶延伸两端寡核苷酸引物之间的靶序列，经重复多次循环，可将标本中含有的某段基因序列扩增上百万倍，此时再进行靶序列的电泳、杂交等，就很容易被检出，此法简便、快速、特异性强、敏感性高。

（3）基因芯片（gene chip）：基因芯片又称为DNA微阵列（DNA microarray），是近年来在生命科学领域中迅速发展起来的一种高新技术，其基本原理是固相反向寡核苷酸探针技术。通过原位合成或合成后交联等方法，将数字极为庞大的DNA寡核苷酸探针按预先设计好的阵列（array）方式，有规律地高度密集地固定于指甲大小的硅片或玻璃片等载体上，犹如集成电路。检测时将样本中的DNA抽提，用荧光染料标记后，与芯片上DNA探针杂交，应用共聚焦显微镜，激光扫描，可以获得结合于芯片上目的基因的荧光信号，通过计算机记录杂交结果和软件分析，即可判别标本中存在的病原体的特异性基因序列，优点在于能够在短时间内分析大量的生物分子标本，并能快速准确地获取样品中的生物信息，故被认为是继基因克隆技术、基因测序技术和PCR技术后的又一次革命性的突破，能够是极有发展前景的微生物学诊断技术。

病原性细菌诊断芯片可以在一张基因芯片上同时对多个标本进行多种病原菌的检测，用样品量极少，极短时间内获得大量的诊断信息，为感染性疾病的诊断提供了一个快速、敏感的高通量检测平台。有利于发现病原体毒力相关基因和开展宿主与病原体相互作用的研究。如已发现化脓性链球菌血清型M18具有编码A型化脓性链球菌毒素和两种未知化脓性毒素同源物的基因。还有的采用短寡核苷酸芯片检测包括霍乱弧菌、炭疽芽胞杆菌、埃博拉病毒在内的18种病原体。

3. 细菌毒素的检测

（1）内毒素的检测：常用的是鲎试验。该试验采用的鲎试剂，是从栖生于海洋的节肢动物“鲎”的蓝色血液中提取变形细胞溶解物，溶解物中含有一种可凝性蛋白质，在极微量内毒素（0.0005μg/ml）存在时可形成凝胶，再经低温冷冻干燥而成的生物试剂。本试验即利用此原理测定血液或其他样品中的微量内毒素。使用鲎试剂检测的试验称为鲎试验。根据鲎试剂反应的原理可分为定性鲎试剂和定量鲎试剂，对应的试验称定性鲎试验和定量鲎试验。定性鲎试验主要用于药品、医疗器械

等产品的内毒素定性检验。定量鲎试验主要用于检测临床患者、动物体内内毒素等方面，以便为医师用药提供参考。在临床病例，下列疾病阳性率较高：内毒素性休克、急性化脓性胆管炎、重症肝炎、腹膜炎、肝硬化等。内毒素检出阳性病例中约有2/3导致死亡。

（2）外毒素的检测：常用的是免疫学试验，其中酶联免疫吸附试验（ELISA）在细菌毒素检测应用尤为广泛。如大肠杆菌不耐热肠毒素和霍乱肠毒素的检测等。

（3）动物实验：一般不作为细菌实验室的常规检测，可测定细菌的毒力或致病性。如怀疑葡萄球菌肠毒素中毒，可用呕吐物等标本经肉汤培养后取滤液接种幼猫肠腔，观察有无发病或死亡。测定细菌毒力，一般以半数致死量（median lethal dose，LD_{50}）或半数感染量（median infective dose，ID_{50}）来表示。此外动物实验主要用于疑难病例，如多次培养阴性的可疑结核病人难以做出病原学诊断，可用标本接种豚鼠，感染后可检出结核分枝杆菌。

三、分离培养与鉴定

分离和鉴定（isolation and identification）是诊断细菌性感染最可靠的方法，即细菌学诊断的黄金标准。根据不同疾病采取不同标本，分区划线接种在平板固体培养基上，可将混杂在标本中的微生物分离出单个菌落，选择出可疑病原菌的菌落转种于斜面获得纯培养，以利于进行鉴定。鉴定的主要内容有：

1. 培养特性　细菌培养应按不同目的选择适宜的培养基以提供特定细菌生长所需的必要条件。根据细菌所需的营养要求（糖、蛋白胨、氨基酸、维生素B_1、血液、X因子、V因子等）、生长条件（温度、pH、培养时间、CO_2、厌氧环境等）和菌落特征（大小、形状、颜色、表面性状、透明度和溶血性等）来做出初步鉴别。另外，细菌在液体培养基中是表面生长形成菌膜，还是沉淀或混浊生长；在半固体培养基上是否检出细菌的动力，均可为细菌的鉴定提供信息。

2. 形态学鉴定　通过分离培养所获得的细菌培养物，经涂片染色后镜检。根据细菌的染色性，形态，大小及排列，有无特殊构造等进行初步鉴定，应强调培养后的形态学检查必须与原标本直接镜检的结果对照观察。

3. 生化试验　鉴定细菌的生化反应特点可作为鉴别细菌的依据。尤其是肠道感染的细菌多为革兰阴性菌，镜下形态和菌落特征基本相同，但其代谢的酶系统和代谢产物等具有很大差别，如各种肠道致病菌对不同种类的糖（葡萄糖、麦芽糖、甘露醇、蔗糖、乳糖等）或氨基酸（色氨酸、含硫氨基酸等）的发酵能力不同，故利用含不同糖或氨基酸的培养基进行生化试验，其结果可作为进一步鉴定的依据。目前多种微量、快速、定量和自动化的细菌生化反应试剂盒和细菌鉴定系统已广泛应用于临床。

4. 血清学鉴定　根据免疫学反应的特异性，利用含有已知抗体的免疫血清如沙门菌属、志贺菌属、大肠埃希菌属等单价和多价诊断血清，对其分离的待测菌的抗原，进行属、种和血清型的鉴定。常用的方法是玻片凝集试验。

5. 药物敏感试验（antimicrobial susceptibility testing）　临床标本经分离培养和鉴定确定了感染症的病原之后，应进行药物敏感性试验，这对指导临床选择用药和及时控制感染是有重要意义的。方法有纸碟法、小杯法、凹孔法、试管法和E试验等。以纸碟法和试管稀释法常用。前者是药物向四周扩散产生抑菌圈，根据抑菌圈的有无和大小来判定试验菌的药物敏感程度；后者是以抗菌药物的最高稀释度仍能抑制细菌生长管和杀菌管为终点，该管含药浓度即为试验菌的最低抑菌浓度（minimum inhibitory concentration，MIC）和最低杀菌浓度（minimum bactericidal concentration，MBC）。MIC和MBC的值越低，表示细菌对该药越敏感。E试验是一种定量的抗生素药敏测定技术，是稀释法和扩散法原理结合的产物，能用连续的MIC数值直接对抗生素的药敏定量（图5-2）。

6. 其他检测法　细菌其他代谢产物的检测，如气相色谱法鉴别厌氧细菌、^{13}C或^{14}C呼吸试验检测幽门螺杆菌产生的尿素酶等；细菌L型的检测；噬菌体对细菌分型的鉴定等。

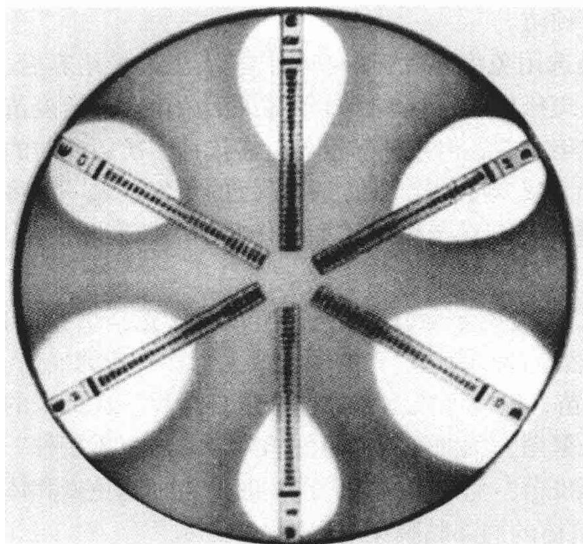


图5-2　E试验（在MH琼脂平板上药敏试验结果）平板上贴有六种不同的抗生素E test试条，可在抑菌椭圆环与E test试条的交界处读取MIC值

四、血清学诊断

病原菌侵入机体能刺激免疫系统产生特异性抗菌抗体，存在于血清或其他体液中。用已知细菌或其抗原检测患者血清或其他体液中未知抗体及其量的变化，可作为某些病原菌感染的辅助诊断。因需采集患者的血清进行此类试验，故称为血清学诊断（serological diagnosis）。

血清学诊断一般适用于抗原性较强，以及病程较长的传染病的诊断，因为机体感染后到血清中能检出抗体常需两周时间。血清学诊断不能只凭一次抗体效价较高就做诊断，通常需在感染早期和恢复期采取双份血清，如果恢复期或1～2周后的血清抗体效价比早期升高4倍或4倍以上，则可确定诊断。

血清学试验方法较多，包括凝集试验、协同凝集试验；沉淀试验、补体结合试验和ELISA试验等。除可作辅助诊断外，尚可调查人群对某病原体的免疫水平及检测预防接种效果。但血清抗体效价受多种因素影响，如年老、体弱和免疫功能低下等。而且血清学诊断检测特异性抗体对感染症的诊断具有其局限性的一面，如疾病早期抗体尚未出现和效价过低，故难以作为早期诊断的依据。当然IgM型抗体出现较早，故在病程早期尽量检测IgM型特异性抗体，发现升高可辅助早期诊断。

第二节　细菌感染的防治原则

细菌感染的防治原则包括：①控制传染源，如隔离、治疗传染病患者，及时发现带菌者，消灭带菌动物；②切断传播途径，如注意个人卫生和个人防护，防止交叉感染；做好医疗器械，污染物品的消毒灭菌；保护水源，管好粪便，加强食品卫生监督；净化空气等；③提高人群的免疫力。

一、细菌感染的特异性预防

特异性免疫的产生，可通过患病、隐性感染等自然免疫和预防接种等人工免疫等方式获得。特异性预防是应用获得性免疫的原理，给机体注射或服用病原微生物抗原（包括类毒素）或特异性抗体以达到预防和治疗感染性疾病的目的。这种方法称为人工免疫。根据其免疫产生的方式进一步分为人工主动免疫（artificial active immunization）和人工被动免疫（artificial passive immunization）（图5-3）。人工主动免疫通常称为预防接种或接种疫苗。人工被动免疫则用于紧急预防或治疗某些疾病。

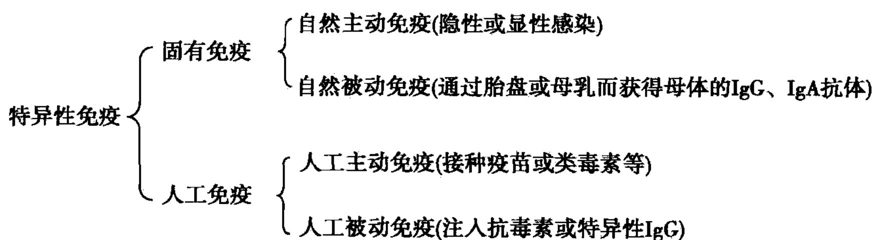


图5-3　特异性免疫的分类

（一）人工主动免疫

人工主动免疫是将疫苗（vaccine）或类毒素等免疫原性物质接种于人体，使机体主动产生特

异性免疫力的一种防治微生物感染的措施，主要用于预防。

1. 灭活疫苗　灭活疫苗（inactivated vaccine）是选用免疫原性强的细菌，经人工大量培养后，用理化方法杀死而成。常用的有伤寒、霍乱、流脑、斑疹伤寒、钩端螺旋体等灭活菌苗。灭活疫苗的优点是安全、有效，易于保存，一般4℃可保存1年左右。但接种剂量大，需接种多次，注射的局部和全身性副反应较大，且只产生体液免疫应答。为减少接种次数和获得广泛的免疫效果，可将几种不同种类的死疫苗混合制成联合疫苗使用，如伤寒沙门菌与甲、乙型副伤寒沙门菌三联疫苗，甚至再加上鼠疫与霍乱组成五联疫苗等。

2. 活疫苗　亦称减毒活疫苗(attenuated vaccine)。通过诱导毒力变异的培养或人工选择培养(如温度敏感株)，将有毒株变为减毒或无毒株，或从自然界直接筛选培养的弱毒或无毒株制备的疫苗。如卡介苗（BCG）、炭疽杆菌疫苗为诱变的减毒活菌苗，鼠疫耶氏菌低毒株是从自然界筛选出来的活菌苗。减毒或无毒菌仍可在宿主体内有一定的生长繁殖，犹如轻型或隐性感染，一般只需接种一次，剂量较小，副反应轻微或无，且免疫效果优于死疫苗，免疫较持久，能同时产生细胞免疫和体液免疫；活疫苗若以自然感染途径接种，尚有SIgA抗体的局部黏膜免疫形成。

另一种特殊的活疫苗称重组载体疫苗（recombinant carrier vaccine），是将编码某一蛋白抗原的基因转入减毒的病毒或细菌中而制成的疫苗。此疫苗接种于人体后，载体会在体内生长繁殖并使重组的基因进行表达，表达的相应蛋白质抗原能刺激机体产生免疫应答。

活疫苗的缺点是需冷藏保存，保存期短。另外，接种活疫苗相当于一次感染过程，遇到免疫功能低下或特应体质的人，会出现类似感染症状或超敏反应等不良现象。减毒活疫苗还存在着出现毒力回复突变的可能性，对免疫缺陷者和孕妇一般不宜接种活疫苗。

3. 亚单位疫苗（subunit vaccine）　仅由微生物的某些成分组成，如能诱发宿主产生中和抗体的微生物蛋白或表面抗原等成分制成的疫苗称亚单位疫苗。如肺炎链球菌、脑膜炎奈瑟菌、流感嗜血杆菌等的荚膜多糖疫苗。但这些亚单位分子的主要不足是缺乏有效的免疫原性，如荚膜多糖疫苗的免疫原性较弱，使用时需与佐剂或免疫原性强的抗原结合成偶联疫苗（conjugate vaccine）。偶联疫苗以蛋白质为载体来增强多糖的免疫原性，同时又可联合预防两种以上的微生物感染，如肺炎链球菌荚膜多糖结合破伤风类毒素和白喉类毒素制成偶联疫苗，能有效预防“白、破、链”感染。另外，亚单位疫苗的生产成本较高，尤其是人工合成的短肽链疫苗。

4. 基因工程疫苗（gene engineered vaccine）　利用基因工程或分子克隆技术获得带有病原体保护表位的目的基因，将其导入原核或真核细胞表达系统获得该病原体的有效免疫原成分提取后制成的疫苗。基因工程疫苗优点是安全、经济，可批量生产，但技术要求高，对表达的保护性抗原蛋白质的回收和纯化较困难。

5. 核酸疫苗　或称DNA疫苗，是将能编码某种病原体抗原的基因克隆到真核质粒表达载体上，然后将重组的质粒DNA直接注射到宿主体内，使外源基因在活体内表达，表达的抗原刺激机体产生免疫应答。这种核酸既是载体又能在真核细胞中表达抗原，由于这些DNA序列在做肌肉注射时不需任何其他的生物载体和化学佐剂，因而又称为裸DNA疫苗（naked DNA vaccine）。由于传统疫苗都是灭活的或减毒活的病原体，或是病原体的亚单位蛋白，即都是抗原物质，而核酸疫苗仅仅是编码病原体某种抗原的基因片段，故被认为是疫苗的第三次革命。核酸疫苗不仅能诱导特异性体液免疫，而且能诱导具有细胞毒杀伤功能的T淋巴细胞，可有效预防病毒、细胞内寄生菌和寄生虫所引起的传染病，给一些以前无法预防或预防效果不理想的传染病，如结核病、艾滋病、疟疾等的预防带来希望的曙光。核酸疫苗的缺点是使用的安全问题，人们担心外源性DNA如整合到宿主染色体中会活化癌基因和影响抑癌基因的表达，导致细胞的恶性转化。另一疑虑是核酸疫苗会使机体产生抗核抗体等而诱导自身免疫性疾病。

6. 类毒素（toxoid）　类毒素是外毒素经0.3%～0.4%甲醛处理后，使其失去毒性但仍保留免疫原性的生物制品，接种后能诱导机体产生抗毒素，以预防由外毒素致病的病原体的感染。常用的类

毒素有破伤风和白喉类毒素等。

在类毒素中加入吸附剂（佐剂）磷酸铝或氢氧化铝等，可使类毒素在机体内的吸收缓慢，能较长时间刺激机体产生足量的抗毒素，以增强其免疫效果。类毒素也可与灭活疫苗混合制成联合疫苗，如由白喉类毒素、百日咳鲍特菌死疫苗和破伤风类毒素混合制备的白、百、破（DPT）三联疫苗，不仅可同时预防这三种疾病，而且还因鲍特菌具有佐剂作用，故能增强类毒素的免疫效果。

（二）人工被动免疫

人工被动免疫（artificial passive immunization）是注射含有特异性抗体的免疫血清或纯化免疫球蛋白，或细胞因子等制剂，使机体即刻获得特异性免疫。人工被动免疫主要用于治疗或紧急预防（表5-1）。

表5-1　两种人工免疫的比较

区别	人工主动免疫	人工被动免疫
免疫物质	抗原	抗体或细胞因子等
免疫出现时间	慢，2～4周	快，立即
免疫维持时间	长，数月～数年	短，2～3周
主要用途	预防	治疗或紧急预防

1. 抗毒素（antitoxin）　用类毒素或外毒素多次免疫马等大动物之后，待其血清中产生高效价抗体（抗毒素）时，采血、分离血清、提取免疫球蛋白并精制成抗毒素制剂。抗毒素主要用于以外毒素致病的病原体感染的治疗及应急预防。临床常用的有破伤风、白喉、肉毒等抗毒素及气性坏疽多价抗毒素等。使用这些异种（马血清）抗毒素时应注意超敏反应的发生。

2. 抗血清（antiserum）　用病原体免疫动物制成的含有抗某种病原体抗体的血清，如抗菌免疫血清（antibacterial immune serum）曾用于肺炎链球菌、鼠疫耶氏菌、炭疽芽胞杆菌、百日咳鲍特菌等的感染症。自抗生素等药物问世后，因细菌的型别多种多样，抗菌血清的制备又较繁杂，使用异种血清可能引起超敏反应等，目前已基本被淘汰，只是对某些已产生多重耐药的菌株如铜绿假单胞菌的感染，仍可考虑用抗菌血清治疗。

3. 免疫球蛋白（immunoglobulin）　主要有胎盘丙种球蛋白（placental gammaglobulin）和人血清丙种球蛋白（serum gammaglobulin）两种制剂。前者是从健康产妇胎盘和脐带血中提取、纯化制备的；后者是从健康成人血清中提取制备的。健康产妇或成人一般都经历过多种病原微生物的隐性或显性感染，故血清中含有多种相应抗体。由于这类制剂不是专门针对某一种细菌或病毒的特异抗体，免疫效果自然不如特异性IgG抗体好，故主要用于某些疾病的紧急预防，也可用于治疗丙种球蛋白缺乏症患者、烧伤患者以及长期化疗或放疗的肿瘤患者细菌感染的应急预防等。

4. 细胞免疫制剂　由于细胞免疫制剂的特异性较低，免疫细胞及细胞因子种类繁多，相互间调控机制复杂，因此细胞免疫制剂在抗感染免疫中的应用并不广泛。目前临床常用的有细胞因子（cytokine）如α、β或γ干扰素（IFN-α、β或γ）、白细胞介素（IL-2、IL-6、IL-12等）、肿瘤坏死因子（TNF）以及淋巴细胞激活的杀伤细胞（LAK细胞）等。

二、细菌感染的治疗

细菌感染的治疗主要是采用抗菌药物来治疗细菌感染。抗菌药物是一类对病原菌具有杀灭或抑制作用的药物，主要包括抗生素和人工化学合成的抗菌药。自1935年第一个磺胺药应用于临床和1941年青霉素问世后，抗菌药物迅速发展，目前应用于临床的已有200余种。每种抗菌药物都有一定的抗菌范围，称为抗菌谱。根据药物抗菌范围的大小，又分为广谱抗生素和窄谱抗生素。有关抗菌药物的分类及其主要作用机制请参考第三章内容。在抗感染的过程中，值得注意的是细菌对抗菌药物产生的耐药性乃至多重耐药性，严重影响临床治疗效果。因此，正确遵守抗菌药物的临床应用

原则是十分重要的。

1. 选择合适的药物　选择药物应以临床诊断、细菌学诊断和药敏试验为依据，不可滥用，应尽量采用相应窄谱抗菌药，避免应用广谱抗菌药引起二重感染。

2. 药物剂量要适当　使用药物的剂量要是过小，不但无治疗作用，而且易使细菌产生耐药性；剂量过大会带来严重的副作用和药物资源的浪费。所以使用药物的剂量要适当，而且疗程要足，若疗程过短，会引起疾病复发或转为慢性。

3. 交替用药　治疗某些慢性细菌性感染，为了避免细菌产生耐药性，应选择不同的抗菌药交替使用。

4. 联合用药　合理的联合用药，既可发挥药物协同抗菌作用，提高疗效，又可减少或延迟耐药菌株的出现。

展　望

21世纪的医学是循证医学，要求医师的任何决策（包括诊断、治疗、手术指征、处方等所有医疗活动和措施）都应根据合理的、充分的科学依据。这就要求微生物学实验室必须为临床提供大量的快速准确的循证资料。近年来，微生物学诊断技术正加速发展，除传统的分离培养与鉴定技术外，于20世纪80年代就出现了微生物检验的自动化系统，如半自动和全自动血培养分析仪、微生物数码分类鉴定系统和药物敏感性分析系统等，另外出现的一些非培养的快速检验法的新技术，从简单的定性试验走向定量和定位分析，使微生物病原学诊断绕过了分离培养等繁杂过程，寻找和建立标本直接检测的快速、灵敏、特异方法，尤其随着微生物基因组工程的快速发展，逐渐进入基因诊断的新阶段，再加上新现的传染病（如AIDS、出血热、克雅病、SARS、高致病性禽流感，猪流感——现已命名为新型甲型流感等）病原体，及再现的传染病（如结核病、狂犬病、鼠疫、霍乱、登革热等）的病原体，对病原微生物的诊断标准的要求也上升到分子水平。如1988年由Dr. Falkow提出的分子郭霍法则（Molecular Koch's postulates）也逐渐被学者们所共识，也是对著名的郭霍法则的升华，它对病原微生物的致病性的诊断也提出了5条标准：①该微生物的表现型或特性应该与同属的致病成员或其物种致病株有关，另外其毒力基因应该在所有该属种的致病株中找到，但在非致病株中是缺失的；②有毒性特征的可疑基因的特异性失活应导致该微生物的致病性或毒力的降低或丧失；③突变株的突变基因与野生型正常基因的基因置换或等位置换应该能回复其致病性的回复；④毒力基因在感染过程中一定有表达；⑤机体抵抗该毒力基因而产生的抗体或免疫细胞应该能保护宿主。虽然分子郭霍法则目前还不能应用于所有可疑的毒力基因，但是它的出现已经大大提高了我们从基因水平对病原微生物的认识和诊断。

随着科技的迅速发展与进步，尤其是抗生素的问世，对细菌感染性疾病的治疗取得了巨大进步。但新病原体的不断出现及已被控制和消灭的传染病的再现，人类仍面临着健康的威胁及新的挑战。目前在治疗方面细菌的耐药性已成为当今研究的难点和焦点，如耐青霉素、耐甲氧西林、万古霉素的金黄色葡萄球菌；耐万古霉素的肠球菌；耐异烟肼和利福平的结核杆菌；耐青霉素的肺炎链球菌；耐氨苄西林的流感嗜血杆菌；耐青霉素和四环素的淋病奈瑟菌等。而研究的重点根据我国的国情，除了研究其耐药机制外，应重点开发抗感染的天然药物，如中药复方、天然抗菌肽和微生态制剂等。另外，开发疫苗是解决较难治疗的耐药菌的最好方法，尤其是将由预防性疫苗转向治疗性疫苗的研究，可降低细菌的感染率，从而减少抗生素用量，延缓耐药性的出现，再加上重视消毒与灭菌，以提高人类健康水平。

（黄　敏）

第六章 消毒灭菌与生物安全

防治病原微生物感染的最好办法就是注意合理地应用消毒灭菌与生物安全技术，这也是最经济和有效的手段。为了贯彻“以预防为主”的方针，应首先要做好消毒与灭菌工作，其目的是将病原和其他有害微生物消灭于外环境，阻断传染病的传播，保护人类的健康。

常用的消毒方法是指去除或杀灭病原微生物，但不能杀死所有非病原微生物和细菌芽胞；灭菌是指用物理、化学方法去除所有活的微生物，包括细菌及其芽胞、病毒、真菌等的方法。在医院中，消毒灭菌常用的物理方法有湿热和干热、辐射、滤过和干燥等。用于消毒的化学制剂称消毒剂。

生物安全涉及病原微生物实验室的生物安全技术及对部分突发性公共卫生事件的处理过程。病原微生物依据其对人类的危害程度分为四类，其中一类和二类为高致病性的病原微生物，必须在生物安全防护级别三级或三级以上的实验室内才能开展相关的工作。在微生物实验室内应严格执行实验室生物安全管理规则，按国家标准实验室生物安全通用要求执行，配备规范的生物安全柜，实施个人防护和实验室安全操作行为，防止实验室内病原微生物污染及扩散到外环境中。

灾害医学是一门新兴的交叉学科，内容主要涉及对灾区伤病员的紧急救治和防灾措施等。其中有关怎样预防和治疗伤病员创伤的微生物感染，提高伤病员的医疗质量，以及在灾区现场如何开展流行病学监测和预防传染病的暴发等，也是我们医学工作者面临的重要任务之一。国内在灾害医学方面的研究起步较晚，自2008年“5 · 12”汶川大地震后，引起了广泛的重视，需要填补的内容较多，因此在本章中对灾害医学的内容也作了简单介绍，以加强灾害医学的教育，培养医学生对灾害后预防微生物感染的观念，提高应对各种突发性灾害事件的处理能力。

Disinfection and Biosafety

Prevention of pathogenic microbial infection includes disinfection and sterilization, prophylactic immunization and biosafety. Several terms are used to describe processes for the killing or removal of microorganisms. Disinfection is a process of removing or killing most viable pathogens, but not destroying all other viable microbes and bacterial spores. Sterilization means the use of physical and/or chemical methods to eliminate all viable microorganisms, including viruses, fungi, bacteria and their spores. Disinfection and sterilization are key processes in the control and prevention of hospital infections as well as being central to many fields of medical practices.

Physical agents, such as wet (boiling water, high pressure steam) and dry heat are the most common sterilizing methods used in hospitals. Sterilization by electromagnetic radiation such as ultraviolet light (UV) or ionizing radiation (X-rays and γ-rays) is also commonly used. Filtration is useful for removing bacteria and fungi from air or from solutions, however these filters are unable to remove viruses and small bacteria.

Chemical agents used for disinfection are called disinfectants. Microbes are also destroyed by disinfection procedures. Recent years some of disinfectants-resistant organisms could be survive, and easily to cause contamination of medical instruments and hospital infection.

Biosafety is defined by the knowledge, technology and operation procedures for the protection of research staff and community population against laboratory accidents and bio-terrorism attack. "Laboratory Biosafety Manual " was published by WHO early in 1983 and then proposed an international rule about biosafety in health-care laboratories.

Biosafety of research laboratory from BSL-1 to BSL-4 is described by the introduction of grading of safety requirements and technology concerned, such as personal protective equipment, biological safety cabinet (BSC), high efficiency particulate air filters (HEPA), avoid of aerosol infection and environmental monitoring. The four-grade system covers the facilities of biosafety for the staff protection and environment protection against microorganisms from those non-pathogenic bacteria to the high risk pathogens like Bacillus anthracis, Yersinia pestis, Ebola virus, SARS corona virus, yellow fever virus and so on.

Calamity medicine is one of the new subjects, which is focus on the emergency medical rescue service after disasters, we should promote in comprehensive emergency medical management with sufficient professional knowledge, prevention of microorganism infection and infectious diseases is much more important in the field. So development of calamity medicine education is necessary not only for medical staffs but also for citizens.

第一节　消毒与灭菌

微生物广泛存在于自然界并不断受其环境中各种因素的影响，当环境适宜时，微生物生长繁殖迅速；若环境条件不适宜或变化过于剧烈，可导致微生物代谢障碍，生长受抑，甚至死亡。人类就是利用理化因素对微生物的影响进行消毒灭菌。消毒与灭菌是预防微生物感染和控制传染病的重要措施之一，也是切断疾病传播途径的有效手段。在医院感染的控制中，对医疗用品及环境进行消毒灭菌，减少患者和医护人员受感染的机会，防止院内交叉感染，有利于提高医疗质量，缩短患者的住院时间。

一、常用术语及其概念

消毒（disinfection）：指消除和杀灭物体表面或外环境中的病原微生物，但不一定能杀死细菌芽胞和非病原微生物的方法。用以消毒的化学药物称消毒剂（disinfectant），一般消毒剂在常用浓度和作用时间下只能杀死细菌繁殖体，对芽胞则无效。消毒的效果常用杀灭率、杀灭指数、"D"值和存活率等指标来评估。

1. 杀灭率（killing rate）　为消毒前后细菌被杀灭数占消毒前细菌数的百分率。以下列公式计算：

$$杀灭率 = \frac{对照组（消毒前）菌数 - 消毒后菌数}{对照组（消毒前）菌数} \times 100\%$$

2. "D"值（Decimal reduction value）　指杀灭90%微生物所需的时间，一般用"分钟"为单位来表示。D值越大，杀灭作用越慢。在蒸汽灭菌中，D121℃值表示在121℃条件下，微生物数减少90%所需时间。但在辐射灭菌中，D10值的含义为杀灭90%微生物所需的照射剂量。

3. 存活率（survival ratio）　为消毒后仍存活的细菌数占消毒前活菌数的百分率，以下列公式计算：

$$存活率 = \frac{消毒后菌数}{消毒前菌数} \times 100\%$$

灭菌（sterilization）：指杀灭物体上的所有微生物，包括杀灭细菌芽胞在内的全部病原和非病原微生物的方法。灭菌的效果是无菌，因此比消毒更彻底。

无菌（asepsis）：不含活的微生物，多为灭菌的结果。防止微生物进入人体或其他物体（如手术区，超净工作柜内等）的操作技术称为无菌操作或无菌技术（aseptic technique），如外科手术或微生物实验室的无菌操作等。

防腐（antisepsis）：防止或抑制微生物生长繁殖的方法。用以防腐的药品称为防腐剂（antiseptics）。一般使用同一种化学药品在高浓度时为消毒剂，在低浓度时为防腐剂，在这种低浓度药物作用下细菌一般未死亡。

卫生处理（Sanitation）：将被污染的无机物体表面（inanimate surfaces）的微生物减少至安全水平。主要指对住院患者污染用品的处理。

二、物理消毒灭菌法

物理学消毒灭菌的方法主要有热力、紫外线、电离辐射和过滤除菌，而干燥和低温可用于抑菌。

（一）热力灭菌法

高温对微生物具有杀灭作用，热力可使蛋白质变性和降解核酸，破坏细胞膜等，因此可用于消毒和灭菌。

干热灭菌法

干热（dry heat）主要是采用火焰、热空气或电磁波产热等方法，使微生物脱水、干燥和大分子变性而杀灭微生物。细菌的繁殖体在干燥状态下，80～100℃经1小时即可被杀死，芽胞则需160～170℃经2小时才被杀死。

1. 焚烧（incineration）　直接点燃或在焚烧炉内焚烧是一种彻底的灭菌方法，但仅适用于处理废弃物或动物与人的尸体等。

2. 烧灼（flame）　直接以火焰灭菌，适用于实验室的接种环、试管口、吸管、瓶盖等。

3. 干烤或干热灭菌器（hot air sterilizer）　用干热灭菌器（俗称干烤箱）加热至160～170℃维持2小时，可杀灭包括芽胞在内的所有微生物，适用于耐高温的玻璃器皿、瓷器、玻质注射器等。

4. 红外线（ultra-red ray）　是波长为770nm～1000μm的电磁波产热（图6-1），其中以1～10μm波长的热效应最强，但热效应只在照射表面产生，因此不能使物体均匀加热，红外线烤箱多用于医疗器械和食具的消毒与灭菌。

5. 微波（microwave）　波长为1～300mm的超高频电磁波统称为微波（图6-1），可穿透玻璃、塑料薄膜与陶瓷等，但不能穿透金属表面。消毒常用的微波为2450MHz与915MHz两种，多用于非金属器械、食具、药杯等消毒。

湿热灭菌法（moist heat）

以加热煮沸或产生水蒸气的热量进行消毒与灭菌。在相同温度下，湿热比干热的灭菌效果好，

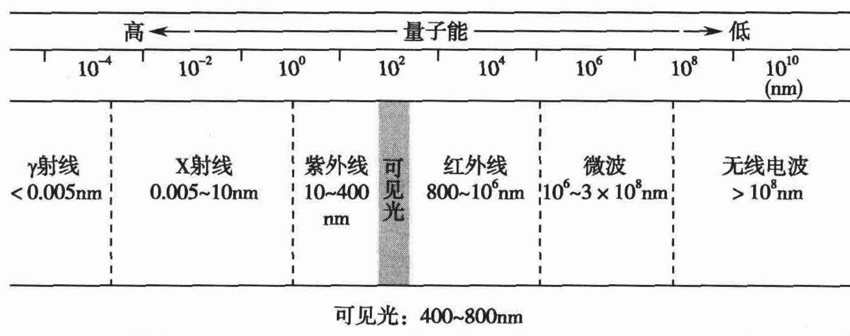


图6-1　电磁波谱的效应范围

其原因是：①在湿热中，蛋白含水量高，更易凝固变性；②湿热的穿透力比干热大；③湿热的蒸汽有潜热存在，每毫升水在100℃时由气态变为液态时可释放出2256.7J（焦耳）热能，可迅速提高被灭菌物体的温度。

1. 巴氏消毒法（pasteurization） 用较低温度杀灭液体中的病原菌（如链球菌、沙门菌、布鲁菌、结核分枝杆菌等）和特定微生物（如腐生菌等），而不破坏物品（酒、乳制品等）中的不耐热的营养成分。此法由微生物学家Louis Pasteur创用以消毒酒类，故得名。方法是加热61.1～62.8℃ 30分钟，或加热72℃ 15秒，目前广泛采用后者，主要用于牛乳的消毒。

2. 煮沸法（boiling water） 在1个大气压下水的沸点为100℃，细菌繁殖体在沸水中5分钟被杀死，而芽胞则需煮沸1～2小时才被杀死。如果水中加入2%碳酸钠可提高沸点至105℃，既能提高杀菌力，又可防止金属器械生锈。本法主要用于食具、一般外科器械、玻璃注射器等的消毒。

3. 流通蒸汽法（free-flowing steam） 在1个大气压下，利用100℃的水蒸气进行消毒。用具是普通蒸笼或阿诺（Arnold）流通蒸汽锅等，80～100℃加热15～30分钟可杀死细菌繁殖体，但不能杀死芽胞。

4. 间歇灭菌法（fractional sterilization） 利用连续三次流通蒸汽加热，以达到使不耐高温物质的彻底灭菌方法。第一次用流通蒸汽加热75～90℃，时间延长至30～60分钟，以杀死不耐热物中的细菌繁殖体，然后将此物移至37℃孵箱中过夜，目的是使未被杀死的芽胞发育成繁殖体，第二天再用流通蒸汽将其杀死。这样连续3次，可将其中所有繁殖体和芽胞杀死，又不会因高温破坏灭菌物中的营养成分。适用于不耐高热的含糖或牛奶培养基的灭菌。

5. 高压蒸汽灭菌法（autoclaving or steam under pressure sterilization） 在1个大气压下煮沸和产生蒸汽的温度都是100℃，短时间内杀不死芽胞，而灭菌的温度取决于蒸汽的压力，即随着压力的升高，蒸汽的温度也相应升高。使用密闭的高压蒸汽灭菌器（autoclave），压力调至103.4kPa（1.05kg/cm^2），器内温度可达121.3℃，维持15～20分钟，可杀灭包括细菌芽胞在内的所有微生物，所以高压蒸汽灭菌法是一种最有效的灭菌方法。常用于一般培养基、生理盐水、手术器械和敷料等耐高温、耐湿物品的灭菌。

（二）辐射杀菌法

1. 紫外线（ultraviolet radiation，UV） 紫外线波长为10～400nm，由长波UV-A、中波UV-B和短波UV-C组成。波长在200～300nm（包括UV-B和UV-C，以及日光中）的紫外线均具有杀菌作用，其中以265～266nm的杀菌作用最强，原因是UV在此波长范围内与DNA的吸收光谱一致（图6-2）。紫外线作用于DNA，使一条链上相邻的两个胸腺嘧啶共价结合形成嘧啶二聚体，从而干扰DNA的正常复制与转录，导致细菌的变异或死亡。但不同波长的UV对DNA的影响机制不一样。UV-B和UV-C能被DNA吸收而直接损伤DNA，UV-A能产生氧活化物质引起DNA的继发性损伤。紫外线的穿透力较弱，普通玻璃、纸张、尘埃、水蒸气等均能阻挡紫外线，故只能用于手术室、无菌室、

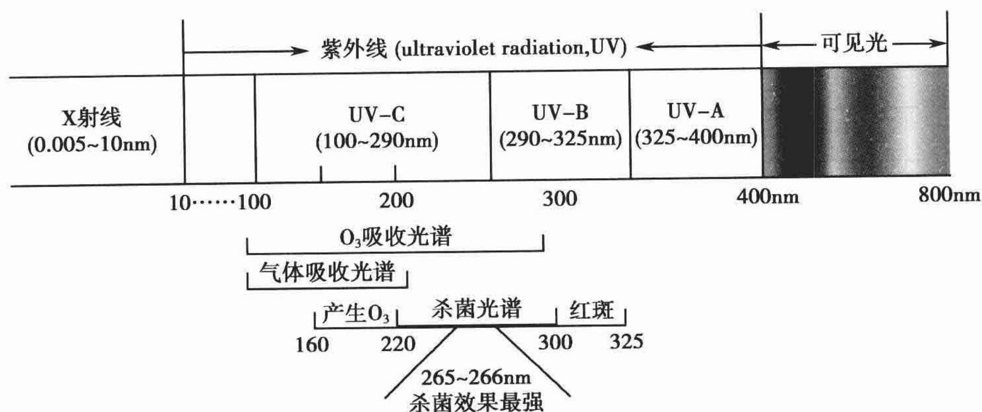


图6-2 紫外线（UV-A、B、C）的效应范围

传染病房等的空气消毒，或用于不耐热塑料器皿等物品的表面消毒，而且必须近距离（1米内）直接照射。杀菌波长的紫外线对人体皮肤、眼睛有损伤作用，应注意个人防护。

2. 电离辐射（ionizing radiation） 包括以短波和高频波为特征的电磁波的辐射以及电子（质子、中子、α粒子）、X射线（波长为0.005 ~ 10nm）和γ射线（波长 < 0.005nm）等的辐射。电离辐射在足够剂量时，对各种微生物均有致死作用，照射时可在物体中产生复杂的效应，这种效应的大小与物体的吸收能量有关。吸收剂量的单位是拉德（rad）和戈瑞（Gray），灭菌剂量为2.5 ~ 5.0Mrad。辐射的杀菌机制为电离辐射具有较高能量穿透力，破坏细胞膜并使细胞分子产生诱发辐射，干扰DNA合成，扰乱酶系统并产生自由基，致细胞损伤死亡。常用的辐射源为放射性核素^{60}Co，用于大量一次性医用塑料制品的灭菌，亦可用于食品、药品和生物制品的消毒或灭菌，而不破坏这些制品的质量。电离辐射具有放射性损害，使用时注意放射性防护。

（三）滤过除菌法

滤过（filtration）除菌是用细菌滤器滤去液体或气体中的细菌，达到无菌目的。滤菌器的滤板或滤膜上含有微细小孔（φ220nm），只允许液体或气体通过，而大于孔径的细菌等颗粒被阻留。滤过除菌主要用于不耐高温的血清、细胞培养液、毒素、抗体、抗生素液等的除菌。此外，还用于超净工作台和生物安全柜中的空气滤过除菌等。

对空气滤过除菌一般采用初级、中级和高级过滤器（high-efficiency particulate air filters，HEPA），可以滤过空气中直径为0.5 ~ 5μm的尘埃微粒，由于微生物通常附着在尘埃上，滤过了空气中的尘埃，也就意味着除去了细菌等微生物。

初级过滤是采用塑料泡沫海绵，过滤率在50%以下；中效过滤是用无纺布，过滤率在50% ~ 90%；高效或亚高效过滤用超细玻璃滤纸，过滤率为99.95% ~ 99.99%。这种经高度净化的空气形成一种细薄的气流，以均匀的速度向同一方向输送，不产生涡流，不聚集尘埃，通过回风口把它带出房间。凡在送风系统上装有高效或亚高效过滤系统的房间，一般统称为生物洁净室。生物洁净室可作为无菌手术室、重症监护室或细胞培养室等。

（四）干燥与低温抑菌法

干燥使细菌菌体脱水、浓缩、代谢缓慢，甚至生命活动停止，如某些细菌（脑膜炎奈瑟菌、淋病奈瑟菌、苍白密螺旋体等）在空气中干燥时会很快死亡。但有些细菌的抗干燥能力较强，如结核分枝杆菌在干燥的痰中能存活数月，细菌芽胞的抵抗力更强，如炭疽杆菌的芽胞可耐干燥达数十年。干燥虽然不能杀死这些耐干燥的细菌或芽胞，但却具有抑制细菌繁殖的作用。干燥法常用于保存食物以防变质。浓盐或糖渍食品可使细菌体内水分逸出，造成生理性干燥，使细菌的生命活动停止，从而防止食物变质。

低温可使细菌的新陈代谢减慢，故常用作保存细菌菌种。当温度回升至适宜范围时，又能恢复生长繁殖。为避免解冻时对细菌的损伤，可在低温状态下真空抽去水分，此方法称为冷冻真空干燥法（lyophilization）。

三、化学消毒灭菌法

化学消毒剂能影响微生物的结构、组成和生理活动，随着浓度的变化具有防腐、消毒和杀灭作用。在常用浓度下一般只对细菌的繁殖体有效，对芽胞的杀灭则需提高浓度和延长作用时间。防腐剂和消毒剂对人体组织和微生物的作用无选择性，吸收后对人体有害，故只能外用或仅用于环境的消毒。

（一）消毒剂的分类

按消毒剂杀灭微生物的能力一般分为三级：

1. 高效消毒剂（high-level disinfectant） 可以杀灭所有种类的微生物（包括细菌芽胞），如次氯酸钠、过氧乙酸、过氧化氢、戊二醛、甲醛、环氧乙烷等。若增加高效消毒剂的浓度或延长作用

时间则具有杀菌作用，称为灭菌剂。

2. 中效消毒剂（intermediate-level disinfectant） 能杀灭除细菌芽胞以外的微生物，包括结核分枝杆菌在内的细菌繁殖体，有包膜的病毒和部分真菌。如乙醇、碘伏、酚等。

3. 低效消毒剂（low-level disinfectant） 可杀灭大多数细菌繁殖体和有包膜的病毒，对真菌也有一定作用，但不能杀灭结核分枝杆菌和亲水性病毒。如苯扎溴铵（新洁尔灭）、高锰酸钾、氯己定（洗必泰）等。

按消毒剂的杀菌机制一般分为三类：

1. 蛋白变性或凝固的消毒剂，如大多数重金属盐类（高浓度）、酚类、醇类、醛类、酸和碱类、氧化剂等。

2. 干扰酶系统和代谢的消毒剂，如某些氧化剂、重金属盐类（低浓度），消毒剂能与细菌代谢酶分子上的－SH基结合而使其失去活性。

3. 损伤细菌细胞膜或病毒包膜的消毒剂，如阳离子表面活性剂（苯扎溴铵）、脂溶剂、酚类（低浓度）等，能降低细菌细胞和病毒包膜的表面张力，增加膜通透性，使胞质内容物溢出，胞外液体内渗，致细菌细胞破裂和病毒裂解。

（二）常用消毒剂的化学性质与用途（表6-1）

表6-1 常用消毒剂的种类和用途

种类	消毒剂名称及使用浓度	用　途
酚类	2%来苏	皮肤、地面、器皿消毒
	3%～5%苯酚	
	0.02%～0.05%氯己定（洗必泰）	术前洗手，腹腔、膀胱、生殖道冲洗
醇类	70%～75%乙醇	皮肤、体温计消毒
醛类	2%戊二醛	精密仪器、内窥镜消毒
	10%甲醛	室内空气熏蒸，物体表面消毒
氧化剂类	0.1%高锰酸钾	皮肤、尿道消毒，也可用于水果、蔬菜消毒
	3%过氧化氢	口腔黏膜消毒，冲洗伤口，防止形成厌氧环境
	0.1%～0.5%过氧乙酸	塑料、玻璃、人造纤维、皮毛、食具、空气消毒，对乙肝病毒敏感
卤素类	0.2～0.5ppm氯	饮水及游泳池消毒
	10%～20%漂白粉	地面、厕所及排泄物消毒，少量饮水消毒
	2.0%～2.5%碘溶液	皮肤消毒
	4ppm二氯异氰酸尿素酸钠（余氯0.3～0.4mg/L）	水、游泳池消毒
表面活性剂类	0.05%～0.1%苯扎溴铵	手术前洗手、皮肤黏膜消毒，器械消毒
	0.05%～0.1%度米芬	皮肤伤口冲洗，金属器械、棉织品、塑料、橡皮制品消毒
重金属盐类	1%硝酸银或1%～5%蛋白银	新生儿滴眼，预防淋病奈瑟菌感染
	0.05%～0.1%氯化汞	非金属器皿的消毒
	0.01%～0.1%硫柳汞	生物制品防腐
烷化剂类	50mg/L环氧乙烷	消毒手术器械、敷料，一次性塑料制品灭菌。对乙肝病毒敏感
染料类	2%～4%甲紫	浅表创伤消毒，对金黄色葡萄球菌敏感
酸碱类	5～10ml/m^{3}醋酸加等量水熏蒸	消毒室内空气
	12.5%～25%生石灰水	地面、排泄物消毒

（三）影响消毒剂作用效果的因素

消毒剂的消毒效果受环境、微生物种类及自身性质等多种因素影响。处理得当可提高消毒效果，反之则削弱其效果，故在使用中应加以注意。

1. 消毒剂的化学性质、浓度与作用时间　各种消毒剂的理化性质不同，对微生物的作用效果也就各异。如戊二醛对细菌繁殖体、芽胞、真菌和病毒都有强消毒作用，是广谱消毒剂，而表面活性剂只对细菌繁殖体和某些病毒有效，不能杀死真菌和细菌芽胞。一般规律是消毒剂的浓度越高，作用时间越长，杀菌效果就越好。但95%乙醇的消毒效果反不如70%～75%为好，因为高浓度乙醇会使菌体蛋白表面迅速凝固，影响乙醇继续渗入菌体内作用。

2. 环境温度与酸碱度　通常消毒剂的杀菌效果随环境温度升高而增强，如2%戊二醛杀灭10^4个/ml炭疽杆菌芽胞时，20℃时需15分钟，40℃时为2分钟，而56℃时仅1分钟即可。又如金黄色葡萄球菌在3%苯酚作用下，于20℃被杀死的时间比在10℃时要缩短5倍。环境的pH也影响消毒剂的杀菌作用，一方面是微生物在适宜的pH中抵抗力较强，偏高或偏低的pH容易促使微生物被消毒剂迅速杀死，另一方面是消毒剂的化学性质所定，如表面活性剂在碱性环境中作用较强，其杀菌作用随pH降低而减弱，相反酚类在酸性环境中的杀菌效果最好，随pH升高其消毒效果会大减。

3. 微生物的种类、性质和数量　不同微生物对消毒剂的敏感性不同，通常情况下，革兰阳性菌比阴性菌对消毒剂更敏感，细菌芽胞、结核分枝杆菌对消毒剂有较强抵抗力，有包膜病毒比无包膜病毒对脂溶性消毒剂更敏感，如脂溶性消毒剂对亲水性病毒（如脊髓灰质炎病毒和其他肠道病毒）几乎无作用。此外，微生物的数量越大，所需消毒剂的浓度越高，作用时间越长。

4. 有机物　细菌常混在血液、尿液、痰或脓汁中，这些液体中含有大量有机物，尤其是蛋白质、多糖和脂类等，均能与消毒剂作用，降低和中和消毒剂的作用，影响其效果。受有机物影响较大的消毒剂是表面活性剂、乙醇、重金属盐和氯化物等。

四、消毒灭菌的实际应用

在医学实践中，合理地选用消毒灭菌方法十分重要。除了针对不同微生物污染的对象应选用不同的消毒灭菌方法外，还要考虑到有些医疗器具不能耐受高温高压的特点。

（一）手和皮肤的消毒

用流动水和洗手液经常洗手是预防许多病原生物感染的有效方法，部分医院科室或实验室内还设立了非手接触式水龙头开关，以避免手的二次污染。常用的皮肤消毒剂有75%乙醇、含有效碘0.5%的碘伏液、含0.5%氯己定的70%乙醇液以及0.2%过氧乙酸溶液等。

（二）黏膜的消毒

可用1%过氧化氢液或0.05%醋酸氯己定溶液漱口，消毒口腔黏膜，或用含有效碘0.05%的碘伏局部涂抹；尿道、阴道、膀胱等可用0.1%～0.5%醋酸氯己定溶液或含有效碘0.025%的碘伏消毒。

（三）医疗器械物品的消毒灭菌

医院中使用的手术器械、敷料、针头、注射器、注射液体等，常规采用高压蒸汽灭菌法灭菌。但有些医疗器械物品不能耐受热力灭菌，如各种内镜、人工心肺机、人工瓣膜、各种导管等，应该选用其他的有效方法。同时还要注意清除污染的内毒素和热源质。

1. 内镜等特殊医疗器械的灭菌　一般选用电离辐射等物理方法。对耐湿热的内镜，如金属直肠镜、腹腔镜、关节镜等，可采用高压蒸汽灭菌法灭菌。对不耐湿热的内镜等可选用化学方法，先对导管的内腔或通道清洗、干燥后，再用消毒液浸泡，在使用前还须用无菌水冲洗，以除去残留的消毒剂。可选用的高效消毒剂，如0.06%～0.08%环氧乙烷气体作用4小时，或用2%戊二醛浸泡10小时等。

2. 口腔器材的消毒灭菌　应按照口腔器材的不同材质和危害程度大小，进行不同的处理。口腔检查器具如压舌板、口镜、探针等，尽量采用一次性用品。牙钻、牙科手术器械等反复使用的器具

应先清洗除去污染后，再进行消毒灭菌。车针的消毒首选高压蒸汽灭菌法，也可选用2%戊二醛浸泡10小时。口腔科手机使用后应进行表面消毒，可采用全自动机清洗消毒法。

（四）患者排泄物与污染物的消毒灭菌

患者的粪、尿和痰液等，一般多用含5%有效氯的次氯酸钠、漂白粉等消毒液作用1小时。

日常生活小用具可煮沸15～30分钟。家具用0.2%～0.5%过氧乙酸擦洗、喷洒。衣服、被褥用流通蒸汽消毒30分钟，或用含5%有效氯的消毒液作用30分钟。运输工具用0.5%过氧乙酸擦洗、喷洒表面。对污水可采用二氧化氯、次氯酸钠，按有效氯20～50mg/L用量加入污水中处理。

（五）室内空气的消毒灭菌

1. 物理消毒法　①臭氧消毒：采用臭氧发生器，要求臭氧浓度≥20mg/m^3，消毒时间≥30分钟。消毒后待房间内闻不到臭氧气味时人才能进人；②紫外线消毒（≥1.5w/m^3，30分钟以上）是最常用的方法，兼有空气消毒和表面消毒的双重作用。但必须在无人状态下才能进行；③滤过除菌是将空气气流通过孔径小于0.2μm的高效过滤装置以除去细菌和带菌尘埃。

2. 化学消毒法　包括使用化学消毒剂喷雾和熏蒸。①过氧乙酸喷雾可用0.5%水溶液，剂量为30ml/m^3，喷后密闭1小时；熏蒸按1g/m^{3}计算，熏蒸2小时；②过氧化氢可用3%溶液喷雾，30ml/m^3，1小时；③二氧化氯溶液：二氧化氯在水中溶解饱和后，即可以气态向空中自然逸散，当空气中有效浓度达到4mg/m^3，即可杀死大量的细菌、病毒和真菌。

第二节　生 物 安 全

生物安全（biosafety）是指避免危险生物因子造成实验室人员伤害，或避免危险生物因子污染环境、危害公众的综合措施。其主要包括病原微生物实验室生物安全及对突发性公共卫生事件的正确处理。前者涉及病原微生物试验中样本采集、运送、分离培养、鉴定或储存等过程，同时也包括由于实验室对生物基因的改造而产生的安全问题；在突发性公共卫生事件中，许多事件也涉及病原微生物及其所致的疾病，如病原微生物被恶意散布或被用来制造生物武器后，造成生物恐怖。因此，生物安全不仅是为了保护实验室内人员的生命健康，更重要的是保护了人群和社会的公共卫生安全。1983年WHO出版了《实验室生物安全手册》，是第一本国际通用的生物安全手册，此后就有了统一的基本原则。

一、病原微生物实验室生物安全

（一）病原微生物危害程度分类

根据病原微生物的传染性、感染后对个体或者群体的危害程度，在中华人民共和国第424号国务院令《病原微生物实验室生物安全管理条例》中将病原微生物可分为以下四类（表6-2）：

第一类病原微生物，指能够引起人类或者动物非常严重疾病的微生物，以及我国尚未发现或者已经宣布消灭的微生物。根据卫生部制定的《人间传染的病原微生物名录》（2006年1月11日），主要包括29种病毒，如克里米亚-刚果出血热病毒（新疆出血热病毒）、埃博拉病毒、马尔堡病毒、天花病毒和猴痘病毒等。目前尚无疫苗可预防。

第二类病原微生物，指能够引起人类或者动物严重疾病，比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的微生物。其中主要包括51种病毒，朊粒，10种细菌，4种真菌。例如，病毒中的口蹄疫病毒、汉坦病毒、高致病性禽流感病毒、艾滋病毒、乙型脑炎病毒、SARS冠状病毒等；能引起人克-雅病、库鲁病的朊粒；细菌中的炭疽芽胞杆菌、布鲁菌属、土拉热弗朗西斯菌、牛型分枝杆菌、结核分枝杆菌、立克次体属、鼠疫耶尔森菌、霍乱弧菌等；真菌中的粗球孢子菌、荚膜组织胞浆菌等。部分已有疫苗可用。

上述第一类和第二类病原微生物又被称为高致病性病原微生物。

第三类病原微生物，指能够引起人类或者动物疾病，但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害的微生物，其传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，人类已经有了可行的治疗和预防措施。对人类致病的常见微生物主要属于第三类微生物，如肠道病毒、肝炎病毒、流感病毒、疱疹病毒、腺病毒等75种病毒；脑膜炎奈瑟菌、金黄色葡萄球菌、志贺菌等145种细菌；白假丝酵母菌、新生隐球菌、马内菲青霉菌等真菌。

第四类病原微生物，指在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的微生物。如大肠埃希菌等，其生物学性状已清楚。

表6-2 病原微生物危险度分类与相应的生物安全实验室级别

病原微生物危险度分类	主要的病原微生物	需要的生物安全实验室级别
第一类（高致病性病原微生物）	克里米亚-刚果出血热病毒、埃博拉病毒、马尔堡病毒、天花病毒、猴痘病毒等	BSL-4；Ⅲ级生物安全柜，有供气的正压防护服
第二类（高致病性病原微生物）	口蹄疫病毒、汉坦病毒、高致病性禽流感病毒、艾滋病毒、乙型脑炎病毒、SARS冠状病毒、炭疽芽胞杆菌、结核分枝杆菌、霍乱弧菌等	BSL-3；Ⅱ级或Ⅲ级生物安全柜，控制气流方向和压力梯度（单向气流）
第三类	肝炎病毒、疱疹病毒、脑膜炎奈瑟菌、金黄色葡萄球菌、志贺菌、致病性大肠埃希菌等	BSL-2；Ⅱ级生物安全柜和应急喷淋
第四类	大肠埃希菌等	BSL-1；无特殊要求

（二）生物安全实验室的生物防护分级

保证在教学、科研以及临床检验等过程中生物安全的基本前提是要有符合生物安全标准的病原微生物实验室。根据病原体的危害程度，病原微生物实验室的生物安全防护水平（biosafety level，BSL）可分为四级，分别以BSL-1、BSL-2、BSL-3和BSL-4表示，代表了从事体外（in vitro）操作生物因子的实验室的相应生物安全防护水平。其中以BSL-4的防护级别最高。

在BSL-1和BSL-2实验室内不得从事高致病性病原微生物实验活动。在BSL-3和BSL-4实验室才能从事高致病性病原微生物的实验活动。对我国尚未发现或者已经宣布消灭的病原微生物，应经批准后才能从事相关实验活动。

在动物感染的实验研究中，需要有符合动物实验相应的生物安全防护水平的实验室。以ABSL-1、ABSL-2、ABSL-3、ABSL-4 表示从事在动物体内（in vivo）操作的实验室的相应生物安全防护水平。动物实验室同时应考虑动物实验操作过程（如感染病原微生物、医学检查、取样、解剖、动物尸体及排泄物的处置等）产生的潜在生物危害的防护。应特别注意对动物源性气溶胶的防护，例如对感染动物的剖检应在负压剖检台上进行。

（三）生物安全实验室的防护

1. 个人防护装备　生物安全实验室必须要求有符合国家有关标准的个人防护装备（personal protective equipment）。包括防护服、口罩（包括N95口罩和N98口罩）、手套、安全眼镜、面部防护罩、防水鞋套等，必要时配备个体独立呼吸器。可产生含生物因子气溶胶的操作均应在生物安全柜中进行。根据不同等级的生物安全实验室，应该配备相应的生物安全柜（biological safety cabinet，BSC）。

2. 建立实验室安全管理体系　成立生物安全委员会，实验室应有科学、严格的管理制度。明确实验室生物安全负责人及责任制，强化日常管理。定期对实验室设施设备、材料等进行检查、维护和更新。应对废水、废气以及其他废物进行合理处置，防止环境污染。

做好各种材料领取、灭菌、事故等的记录、报告。搞好实验室人员培训、考核。制定、完善和执行标准操作规程。培训实验室工作人员安全操作尖利器具及装置。定期开展实验室生物安全监督

检查，及早发现问题并予以彻底解决。

应有健全安全保卫制度，严防高致病性病原微生物被盗、被抢、丢失、泄漏，保障实验室的安全，避免造成传染病传播、流行或者其他严重的后果。应制定紧急撤离的行动计划并进行演练。

3. 安全工作行为　各类工作人员，必须掌握实验室技术规范和操作规程，严格执行各项管理制度。从事高致病性病原微生物相关实验活动必须有两名以上的工作人员共同进行。在同一个实验室的同一个独立安全区域内，只能从事同一种高致病性病原微生物的实验。养成良好的洗手习惯。从标本采集、运送到实验室操作阶段，严防病原微生物泄漏和污染。防范气溶胶产生、扩散及吸入，妥善处理废弃物。

应建立实验室工作人员的健康档案；应进行相关疫苗的预防接种，而且必须在产生有效保护期之前进行接种，才能保证工作人员按期进入实验室工作。

如果实验室发生高致病性病原微生物泄漏时，实验室工作人员应当立即采取紧急措施，防止扩散。①隔离被病原微生物污染的实验室或者病原微生物可能污染的场所；②向上级主管部门如实报告；③对密切接触者进行医学观察；对相关人员进行医学检查；④进行现场消毒；⑤对感染或者可疑感染的动物进行隔离、捕杀。

二、突发公共卫生事件

（一）突发公共卫生事件的特点与危害

突发公共卫生事件（emergency of public health）是指突然发生的，造成或者可能造成社会公众健康严重损害的重大传染性疾病疫情、群体性不明原因疾病、重大食物和职业中毒以及其他严重影响公众健康的事件，对公共生物安全造成影响。其主要有以下特点与危害。

（1）突然发生，不易预测，后果严重。突发公共卫生事件往往是突如其来的。如大地震、洪涝灾害、事故灾难、生物恐怖、食物中毒等，除造成大量人员伤亡外，还可能会出现新病原体。

（2）危害公众，损失重，易引起社会恐慌和混乱。突发公共卫生事件可危及所有社会公众，易引起社会恐慌和混乱。尤其是在都市化、现代化、国际化加快发展的今天，突发性公共卫生事件影响范围广，损害人数多，经济损失大，社会危害重。

（3）影响范围广，可超出国界，波及世界范围。跨国旅行、频繁的人员流动、国际贸易和快捷的交通工具，为传染性疾病在世界范围的传播流行提供了便利的条件。各种病原微生物可能从一个地区传播至另一个地区，从一个国家传播至另一个国家，危害全球。

（二）常见的突发公共卫生事件

1. 传染性疾病暴发　传染性疾病暴发是指局部地区短期内发生多例或者明显多于预期的同一种急性传染性疾病，包括法定的或非法定的传染性疾病；或者是出现了新发传染性疾病。目前，传染性疾病仍然是全世界发病率最高，引起人类死亡的主要原因。在1995年度WHO的报告中，全世界死亡的5200万人中，有1700万人是死于传染病，占死亡人数的32.7%。

2. 动物疫情　人兽共患疾病在动物间暴发或媒介异常，如动物间禽流感、炭疽、鼠疫、布鲁菌病暴发等。

3. 突发社会事件　突发社会事件中以生物恐怖袭击更为严重，应引起高度重视。常见引发生物恐怖的病原微生物主要包括：①细菌或细菌毒素类，如炭疽芽胞杆菌、鼠疫耶尔森菌、土拉弗朗西斯菌、肉毒梭菌毒素等；②病毒类，如天花病毒、出血热病毒（埃博拉病毒、马尔堡病毒、鸠宁病毒、马秋博病毒、立夫特山谷热病毒、汉坦病毒、克里米亚-刚果出血热病毒等）等；③真菌毒素，如T_2毒素（镰刀菌属的真菌产生的毒素）等。生物恐怖袭击多采用气溶胶施放、信封邮寄或污染水源及食物等，将会对人、动物和植物等造成严重危害。

（三）突发公共卫生事件的处理

1. 预防与应急准备　为了搞好公共生物安全，要开展健康教育，建立监测预警系统，制订应急

预案，储备应急设施、设备、救治药品和医疗器械以及其他物资和技术，加强应急处理专业队伍的建设和培训。

2. 应急处理　启动突发事件应急预案；开展流行病学调查，采集样品，收集相关资料，查明事件发生原因和危险因素，判定突发事件的性质和级别。

对有关人员进行疏散或者隔离患者，对传染性疾病疫区和污染区实行封锁，对相关食物和水源采取控制措施。宣传防治知识，及时对易感人群和其他易受损害人群采取应急接种。采取卫生防护措施，防止交叉感染和污染。

第三节　灾害后微生物感染的控制

灾害通常是指突然发生的、给人类生命造成大量伤亡或严重财产损失的重大事件。随着现代科学技术的发展和人类生产活动的快速扩张，各种灾害的发生有增无减，直接影响到周围环境、人类健康和生命。因此，灾害是自然界客观存在着的一种社会现象。人类在同灾害长期搏斗的过程中，通过不断总结经验，从医学救护的角度出发，建立了灾害医学（calamity medicine）这门新学科，研究的主要内容涉及对灾区伤病员的紧急救治和防灾措施等。其中有关怎样预防和治疗伤病员创伤的微生物感染，提高伤病员的医疗质量，以及在灾区现场如何开展流行病学监测和预防传染病的暴发等，也是医学工作者面临的重要任务之一。从国外和国内的研究动态来看，以前的研究重点更多是放在灾区现场伤员的生命紧急救援方面，而对伤员创伤感染的防治以及灾后传染病的预防方面空白较多，需要我们在抗灾救灾的实践中不断补充新内容。我国幅员辽阔，地质结构和气象条件十分复杂，是一个灾害多发的国家。特别是目前处于经济高速发展的时期，人们在享受现代化带来的成果时，也对周围的生态环境造成了一定的破坏。国内在灾害医学方面的研究起步较晚，研究滞后，经过了2008年5·12汶川大地震后，灾区出现了大量创伤感染的患者，尤其是气性坏疽患者，重者被截肢或死亡。随后出现的海地和智利的大地震，更加引起了医学界对该领域的高度重视。为了与时俱进，在本教材中特对灾害医学相关的内容作了补充介绍。其目的是培养医学生对灾害后预防微生物感染的意识，提高应对和正确处理各种突发性灾害事件的能力。

一、灾害医学概述

由于灾害的发生常具有突发性，在发生的时间、地点和空间难以预料或准确的预报，一旦灾害发生后，往往都会引起生命和财产的巨大损失。灾害医学就是研究各种灾害对人类健康及其周围生存环境的影响，以及怎样开展灾后医疗救护和疾病防治的一门学科。它不同于普通的临床医学，不是面对单个患者的健康问题，而是面对大量伤亡的人群和灾区现场。研究的内容涉及环境科学、临床医学、预防医学、医学微生物学、护理学、心理学等多个学科。因此，灾害医学也是一门新兴的交叉综合性学科，又称作灾害救援医学。

（一）灾害的分类

引起灾害发生的原因十分复杂，根据灾害形成的特点，一般可以分为自然灾害、事故灾害和公共卫生事件灾害。从广义概念来讲，战争也归属于灾害。

1. 自然灾害　由自然力量所造成的对人类生存环境的严重破坏，如地震、海啸、洪水、火山喷发、台风、干旱。

2. 事故灾害　包括了化学性因素：如农药、毒气、废弃物等；物理性因素：如放射线、高温烧伤、核泄漏等；生物性因素：如生物武器、病原生物污染等。

3. 公共卫生事件　如传染病疫情、群体性不明原因疾病、食品安全、动物疫情和生物恐怖等。

（二）重大灾害对人类生存的影响

以地震为例，由于人口居住相对集中，当地震发生后，对人群所造成的伤亡极大。在1976年，

我国（唐山）大地震造成的死亡人数为24万2千名，重伤者达16万4千人。在2008年“5·12”我国（汶川）大地震近7万人死亡，受伤人数为37万4千多，失踪者达17923人。2010年1月海地发生的大地震，死亡人数达22万之多。2010年2月智利发生的8.8级大地震，也造成了大量人群的伤亡，损失惨重。

当地震发生后，对绝大多数人的伤害是发生在地震的一瞬间，由于当地的医院垮塌、电讯中断、交通阻断、医疗抢救队伍不可能迅速到位等，必然会造成大量的人员伤亡和伤口感染。由于当地环境的突然改变、垃圾处理不及时，水源容易污染等，容易导致灾区传染病的暴发。

自然灾害伴发传染病的实例见表6-3。

表6-3 自然灾害伴发传染病的实例

灾害	地点	时间	疾病	报告病例
洪水	秘鲁	1983	疟疾	28560
洪水	厄瓜多尔	1982～1983	疟疾	28000
洪水	巴西	1966、1970、1975	细螺旋体病	100
飓风	多米尼加	1979	胃肠炎	28000
地震	哥伦比亚	1983	腹泻；肝炎	15000；214
火山喷发	哥伦比亚	1983	坏疽	30

二、灾害后的医学救援原则

灾害后医学救援的基本任务是要抢救生命，对伤员提供现场急救，尽量减少伤亡人数，及时将伤员转送到医疗机构，促进伤员的健康恢复。

灾害现场往往是及时抢救伤员的最有效场所。这是因为灾害事故现场急救的黄金时段很短，越早实施急救，伤员存活的希望就越大。一般来说，在地震发生后，急救的黄金时间在72小时以内。在急救现场和紧急情况下，避免创伤部位的感染问题，往往会被忽视，这会给伤员的后续治疗带来很多问题，也容易因感染而发生并发症。据此，现今国内外学者已提出了建立移动的重症监护室（ICU），从急救人员的组成，到医疗设备的配置，能够保证在灾害现场实施有效的诊断和治疗，不仅能在现场有效地施展急救抢救生命，而且能很好地控制伤员的创伤感染，提高伤员存活率和生命质量。

三、灾害后感染的控制

灾害发生后，首先要采取医学措施救援伤员。其次要对灾区现场采取卫生防疫措施，预防和控制灾后传染病的发生。

（一）医学急救措施

在现场抢救伤员生命的过程中，还应随时考虑到创面感染的问题，应对创面进行彻底清创和消毒处理，防治厌氧菌感染。对有泥土污染伤口的伤员，还需及时进行抗破伤风免疫。

在地震发生后的7天之内，有外伤的伤员占到74%以上，到地震发生7天之后，多数伤员出现伤口感染、上呼吸道感染和肠道感染，因此，伤员表现出的临床症状，随着时间推移而出现改变。严重者还会出现肢体气性坏疽，其病原菌有产气荚膜梭菌等。

（二）灾害后现场的卫生防疫

1. 灾害后可能流行的传染病

（1）自然疫源性疾病：啮齿动物、传播媒介（蚊、苍蝇、臭虫、蟑螂、疟疾、登革热、乙型脑炎）。

（2）常见的传染病：霍乱、痢疾、胃肠炎、伤寒、乙型脑炎、肝炎。

（3）气性坏疽，破伤风。

2. 灾区传染病发病率增加的危险因素　传播机会增加：灾区防疫条件差，容易经污水和空气传播病原微生物。

人群易感性增大：因灾区卫生条件差，营养差，人体免疫力低下。

新病原体传入或自然疫源性疾病传播。

3. 预防和控制的主要措施

（1）环境卫生处理：开展卫生防疫工作：要对污染区进行划定和封锁，对疾病传播媒介（蚊蝇、老鼠等）处理，对污染区现场进行消毒。

要迅速对尸体、人和动物的排泄污物（污水、粪便、垃圾）进行处理；建立应急的简易厕所。

要正确的选用消毒剂，要注意耐受消毒剂的病原微生物污染问题。

（2）灾区的食品卫生安全，水卫生安全：检查捐赠食品的卫生，临时储水处是易污染的地方，应搞好饮用水净化。

（3）采取的医学措施：要加强自我保护的意识教育。

采用化学药物预防法，要做药物敏感试验；应注意细菌耐药性的出现。

有针对性开展预防接种。

对传染区进行卫生隔离，要加强海关及边境检测。

（4）应对生物恐怖袭击，要快速鉴定病原微生物或危险因子，迅速制定出防治措施。

四、建立应急预案体系

1. 应急救援物资的储备　储备消毒灭菌和杀虫药品、个人防护装备。

饮水净化的化学药物或装备，常规疫苗。

2. 承担日常疾病控制、检测等常规工作、建立公共卫生应急网。

重点对不明原因疾病的病原监测、毒物检测、食源性中毒检测。

3. 搞好评估分级标准。

4. 开展国际救援组织的交流及合作。

五、加强灾害医学教育和专业培训

目前我国的灾害医学教育培训体系还处于空白，在普通高等学校的教材中，都没有灾害医学教育的内容。国内的灾害医学救援体系还不能适应现代社会经济高速发展的需要。当灾害发生时，因公众没有经过正规教育或培训，缺乏应对灾害的思想准备及应变准备，还缺乏在现场参加紧急救援的技术和经验，有必要加强全民的灾害医学教育。

展　望

从20世纪70年代以来，新病原体不断出现，过去已被控制和消灭的部分病原体又死灰复燃，传染病仍是发病率最高，引起人类死亡的主要原因。此外，细菌、真菌等微生物还出现了对抗生素的耐药性，有少数耐药菌甚至还成为了依赖抗生素的菌株，这已经成为临床感染性疾病治疗中的全球性难题。现今人类仍继续面临着病原微生物的危害和挑战。

对付传染性疾病的最佳办法仍然是贯彻预防为主的方针，开展消毒与灭菌，重视生物安全，才能有效地预防和控制微生物的感染，这是最合理也是最经济的措施。在医学领域中，高压蒸汽灭菌等技术仍然是应用最广泛的可靠方法，但高温对许多含高分子材料的医疗器具，如人造心瓣膜、内镜及其导管、人工关节等，会造成影响和破坏，限制了加热杀菌技术的应用范围。除了化学消毒剂和辐照杀菌技术外，人们还继续在探索新型非热杀菌技术（nonthermal processing），例如过氧化氢低温等离子体灭菌、超声波杀菌、超高静压杀菌、脉冲电场杀菌、高压电弧放电杀菌等技术，这些

技术的突破，将对不耐热的新型医疗器具、食品工程、制药工程、污水处理等领域的消毒灭菌有着重要的实际意义。

近年来，随着化学消毒剂的广泛应用，有关耐受消毒剂的病原微生物也大量出现，引起了国内外学者们的重视。这些耐消毒剂的病原微生物，容易污染内镜及其导管、导尿管、呼吸机等，引起医院感染。对病原微生物耐受消毒剂的机制，也值得进一步研究，有利于开发出新型消毒剂。

生物安全是国际的热点问题，这不仅仅涉及病原微生物实验室的生物安全，还应该考虑到突发性公共卫生事件对社会和公众的影响，怎样从生物安全的角度加以正确地判断和处理。我国在2003年SARS疾病发生后，虽然在生物安全方面有所重视，但是因起步较晚，还需要在生物安全管理制度和生物安全的硬件方面加强建设。全世界有许多国家和地区已建立了生物安全协会，促进了控制实验室感染的研究和技术人员的培训，这必将推动我国在该领域的迅速发展。

灾害医学是一门多学科交叉的新兴学科，我国起步较晚，积累的经验还有限。除了加强人们对灾害后预防微生物感染的教育，提高正确处理各种突发性灾害事件的能力外，还要有忧患意识。在灾害发生之前，我们就应有医疗卫生方面的应急预案和医疗物资的大量储备。近年来，相继发生了海啸、中国汶川、海地和智利大地震等，国内有关灾害医学方面的著作方兴未艾，灾害医学的教育也引起了政府的重视，病原微生物与感染的预防和控制是一个永远值得探索的问题，将仍然会继续被关注。

（贾文祥　曾　蔚）

第七章 球 菌

球菌是一大类常见的细菌，广泛分布于自然界。人和动物的皮肤及与外界相同的腔道中，亦经常有球菌的存在。大部分是不致病的腐生寄生菌，但有些人可携带致病性球菌。球菌根据革兰染色性不同，分革兰阳性球菌和革兰阴性球菌。葡萄球菌、链球菌、肠球菌等为革兰阳性球菌，脑膜炎球菌、淋病奈瑟菌、黏膜奈瑟菌等为革兰阴性球菌。引起人类疾病的球菌称为病原性球菌(pathogenic coccus)。病原性球菌能引起化脓性感染，故亦称化脓性球菌 (pyogenic coccus), 主要包括葡萄球菌、链球菌、肺炎链球菌、脑膜炎球菌和淋病奈瑟菌等。

The pathogenic cocci mainly include staphylococci, streptococci, gonococcus and meningococcus. Staphylococci, parasitic to humans, belong to the pathogenic bacteria. The spherical bacterial cells typically occur in irregular clusters. Staphylococcal infections usually remain localized at the point of entry. *S. aureus* is one of the major causes of hospital-acquired infection. Foreign bodies, such as sutures, indwelling catheters, and implanted joints, are extremely susceptible to *Staphylococcus epidermidis* colonization, and often serve as the point of entry for infection. Another common path of infection is the respiratory tract, where the bacterium causes pneumonia. Other diseases caused by staphylococci include skin infection, sinusitis, emesis, diarrhea, endocarditis, scalded skin syndrome, osteomyelitis, urinary tract infection, and toxic shock syndrome. The most common form of food poisoning is brought on by staphylococcus-contaminated food.

Streptococci are comprised of a wide variety of both pathogenic and commensal gram-positive bacteria which are found to inhabit a wide range of hosts, including humans, horses, pigs and cows. Within the host, streptococci are often found to colonize the mucosal surfaces of the mouth, nares and pharynx. Streptococcus is a Gram-positive, nonmotile, nonsporeforming coccus that occurs in chains or in pairs of cells. The organism is a catalase-negative facultative anaerobe, and requires enriched medium containing blood in order to grow. Streptococcal disease is most often a respiratory infection or a skin infection. *S. pyogenes* infections can also result in sinusitis, otitis, pneumonia, joint or bone infections, meningitis or endocarditis. Scarlet fever and streptococcal toxic shock syndrome are systemic responses to circulating bacterial toxins. Two post streptococcal sequelae (rheumatic fever and glomerulonephritis) occur in 1% ~ 3% of untreated infections. *S. pneumoniae* is the leading cause of pneumonia in all ages. *S. pneumoniae* is also associated with diseases in other parts of the respiratory tract including the paranasal sinuses, which is better known as sinusitis, and the middle ear can become infected, which is known as otitis media.

Gonococcus (*Neisseria gonorrhoeae*) and meningococcus (*Neisseria meningitides*) consists of aerobic, nonsporeforming gram-negative bacteria which inhabit the mucous membranes of many animals and humans. These nonmotile microbes require a moist environment and warm temperatures to achieve optimum growth. Gonococcus grows well on chocolate agar containing antibiotics that inhibit growth of other bacteria and molds. Gonococcus has a wide range of virulence determinants, although it does not

produce any exotoxins. The disease gonorrhea is a specific type of urethritis that, in adults, practically always involves mucous membranes of the urethra, resulting in a copious discharge of pus, more obvious in the male than the female. The onset of meningococcal meningitis may be abrupt or insidious. Meningococcus is spread through droplet nuclei from a cough or sneeze. The bacteria apparently pass through the mucous lining of the oropharynx and enter the bloodstream from which they invade the linings of the brain and spinal cord. The usual signs of meningococcal meningitis include fever, malaise, and headache. Neurological signs are common; approximately one-third of patients have convulsions or coma. Petechiae or purpura occurs from the first to the third day of illness in 30% to 60% of patients with meningococcal disease, with or without meningitis.

第一节　葡萄球菌属

葡萄球菌属（*Staphylococcus*）的细菌因堆聚成葡萄串状而得名，为最常见的化脓性球菌，广泛分布于自然界、人和动物，多数为腐生或寄生菌。少数人可携带致病性葡萄球菌，医务人员的带菌率可高达70%，且多为耐药性菌株，是医院内感染的重要传染源。目前发现葡萄球菌属细菌有32种，寄生人体的有16种，其中只有金黄色葡萄球菌能产生血浆凝固酶，称为血浆凝固酶阳性葡萄球菌，将其余统归为凝固酶阴性葡萄球菌（见表7-1）。

表7-1　与人类有关的葡萄球菌

菌　种		凝固酶	定植人体	引起疾病
金黄色葡萄球菌	*S. aureus*	+	常见	常见
表皮葡萄球菌	*S. epidermidis*	–	常见	常见
腐生葡萄球菌	*S. saprophyticus*	–	常见	常见
溶血葡萄球菌	*S. hemolyticus*	–	常见	少见
施氏葡萄球菌	*S. schleiferi*	–	常见	少见
里昂葡萄球菌	*S. lugdunensis*	–	常见	少见
华纳葡萄球菌	*S. warneri*	–	常见	罕见
模仿葡萄球菌	*S. simulans*	–	常见	罕见
解糖葡萄球菌	*S. saccharolytics*	–	常见	罕见
木糖葡萄球菌	*S. xylosus*	–	常见	罕见
人葡萄球菌	*S. hominis*	–	常见	罕见
头葡萄球菌	*S. capitis*	–	常见	罕见
耳葡萄球菌	*S. auricularis*	–	常见	罕见
科氏葡萄球菌	*S. cohnii*	–	常见	罕见
巴氏葡萄球菌	*S. pasteuri*	–	少见	罕见
山羊葡萄球菌	*S. caprae*	–	少见	罕见

一、金黄色葡萄球菌

（一）生物学性状

葡萄球菌（staphylococci）呈球形或椭圆形。直径为0.5～1μm。常以葡萄串状排列，但有时亦可见散在、成双或呈短链状存在。无鞭毛，无芽胞，体外培养一般不形成荚膜，但体内菌株荚膜形成较为常见。革兰染色阳性，当衰老、死亡、被吞噬细胞吞噬或在青霉素等药物影响下，菌体可染成革兰阴性。该菌营养要求不高，在普通培养基上生长良好。需氧或兼性厌氧，在18～40℃

均可生长。耐盐性强，在含有10% NaCl培养基中能生长，故可用高盐培养基分离菌种。普通琼脂平板上形成圆形、表面光滑湿润、不透明的菌落。典型菌株产生脂溶性的金黄色色素而使菌落呈金黄色。在血琼脂平板上，因金黄色葡萄球菌（*S. aureus*）能产生溶素，在菌落周围形成明显的透明溶血环。

金黄色葡萄球菌可进一步用噬菌体分型，分为4群23型。噬菌体分型在流行病学调查时追踪传染源及研究菌型与疾病关系上均有重要意义。

金黄色葡萄球菌的结构见图7-1 。较重要的抗原有：

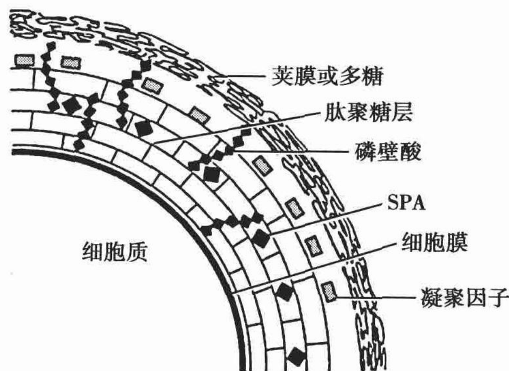


图 7-1 葡萄球菌结构模式图

1. 荚膜 葡萄球菌荚膜（capsule）为多糖层，体外培养中少见，在动物体内常见。分11个血清型，与感染有关的主要为5型和7型。荚膜能抑制中性粒细胞对细菌的趋化和吞噬作用；抑制单核细胞受促分裂原作用后的增殖反应；促进细菌对医用导管和其他合成材料的黏附。

2. 葡萄球菌A蛋白 葡萄球菌A蛋白(staphylococcal protein A，SPA） 是金黄色葡萄球菌细胞壁的表面抗原，具有属特异性。SPA为单链多肽，与细胞壁肽聚糖共价连接，但有1/3位于胞外。它可与人IgG1、IgG2和IgG4的Fc段发生非特异性结合，通过与吞噬细胞争夺Fc段，有效地降低抗体介导的调理作用。此外，SPA与IgG复合物有促细胞分裂、引起超敏反应、损伤血小板等多种生物学活性。临床上以抗体致敏SPA阳性菌作为诊断试剂，已广泛地应用于微生物抗原的检出，称为协同凝集试验（coagglutination）。

3. 磷壁酸 金黄色葡萄球菌为*N*-乙酰葡糖胺核糖醇磷壁酸（多糖A）；表皮葡萄球菌为*N*-乙酰葡萄糖甘油型磷壁酸（多糖B）。磷壁酸能与细胞表面的纤连蛋白（fibronectin）结合，从而介导葡萄球菌对黏膜表面的黏附。磷壁酸抗原性弱，属半抗原，当与肽聚糖结合后，可引起机体的免疫应答，检测抗磷壁酸抗体，可用于诊断细菌性心内膜炎等全身性葡萄球菌感染。

4. 肽聚糖 有抗原性，能刺激机体产生调理性抗体，促进单核细胞的吞噬功能。吸引中性粒细胞，促进脓肿形成；亦有诱导吞噬细胞产生IL-1、活化补体、刺激致热原产生和抑制吞噬作用等生物学活性。

（二）致病性与免疫性

金黄色葡萄球菌是人皮肤和黏膜的正常菌群，约15%人群携带该菌。在干燥物体表面生存期较长，如在干燥的脓液、痰液中可存活2～3个月。通过直接接触传染或污染物（fomites）传染。主要易感因素是个人卫生状况、医源性感染、慢性病、异物、手术和使用抗生素等。金黄色葡萄球菌可产生多种毒力因子（表7-2）。

1. 凝固酶（coagulase） 分游离凝固酶（free coagulase）和结合凝固酶（bound coagulase）。游离凝固酶分泌至菌体外,被血浆中凝固酶反应因子激活,形成葡萄球菌凝血酶（staphylothrombin），能使纤维蛋白原变为纤维蛋白，导致血浆凝固；结合凝固酶或称凝聚因子（clumping factor）在菌体表面， 能与纤维蛋白原结合，使纤维蛋白原变为纤维蛋白而引起细菌凝聚。游离凝固酶采用试管法检测，使血浆凝固成胶冻状者为阳性；结合凝固酶可用玻片法测定，细菌凝聚成颗粒状为阳性。凝固酶阳性的葡萄球菌均为金黄色葡萄球菌。

凝固酶与金黄色葡萄球菌的致病力有密切关系，可使血浆纤维蛋白包被在菌体表面，妨碍吞噬细胞的吞噬或胞内消化作用，还能保护细菌免受血清杀菌物质的作用。同时病灶周围有纤维蛋白的凝固和沉积，使细菌不易向外扩散，故葡萄球菌感染易局限化。

2. 葡萄球菌溶素（staphylolysin） 有α、β、γ和δ四种，都是蛋白质，具有抗原性，可被相应抗体中和。α溶素由质粒或染色体编码，除对多种哺乳动物红细胞有溶血作用外，对白细胞、

表7-2 金黄色葡萄球菌致病物质

毒力因子	生物学效应
表面结构	
荚膜	抑制趋化和吞噬作用，抑制单核细胞增殖，易吸附于异物表面
肽聚糖	稳定渗透压；刺激致热原产生；促进白细胞趋化黏附作用（脓肿形成）；抑制吞噬作用
磷壁酸	调节细胞膜离子浓度；与纤连蛋白结合后介导细菌对黏膜表面的黏附
SPA	通过与IgG FC段结合，抑制抗体介导的吞噬；促进白细胞趋化黏附；有抗补体作用
毒素	
细胞毒素	（α，β，δ，γ，P-V），对多种细胞有毒，包括白细胞，红细胞，巨噬细胞，血小板及纤维细胞
剥脱毒素	丝氨酸蛋白酶，裂解细胞间桥小体，破坏细胞间的连接
肠毒素	超抗原，刺激T细胞增生和细胞因子释放；促进肥大细胞释放炎症介质，增加肠蠕动和促进肠液丢失，引起恶心、呕吐
TSST	超抗原，刺激T细胞增生和细胞因子释放；引起血浆漏出或破坏内皮细胞
酶	
血浆凝固酶	使纤维蛋白原转为纤维蛋白
触酶与脂酶	分别分解H_2O_2与水解脂质
透明质酸酶	水解透明质酸，促进细菌扩散

血小板、肝细胞、成纤维细胞、血管平滑肌等均有毒性作用，可引起组织坏死。其作用机制可能是毒素分子插入细胞膜疏水区，从而破坏膜完整性造成细胞溶解；β溶素为神经鞘磷脂酶C（sphingomyelinase C），能水解细胞膜磷脂，损伤红细胞、白细胞、巨噬细胞和纤维细胞。也与组织坏死和脓肿形成有关；δ溶素具有去污剂样作用，能裂解红细胞和哺乳类细胞膜，具有广谱溶细胞作用；γ溶素类似杀白细胞素。

3. 杀白细胞素（leukocidin） 又称Panton-Valentine（PV）杀白细胞素，有F和S两个组分。在细胞膜上，S组分的受体主要是神经节苷脂GM1，F组分则为卵磷脂，两个组分均与受体结合，可改变细胞膜的结构，形成小孔，使细胞对阳离子的通透性增加，引起人和动物中性粒细胞和巨噬细胞的损伤，最终导致细胞死亡。死亡的细胞可以形成脓栓，加重组织的损伤。

4. 葡萄球菌肠毒素（enterotoxin） 是一组热稳定的可溶性蛋白质，相对分子质量约为$26\times10^3\sim30\times10^3$。100℃ 30分钟不被破坏。能抵抗胃肠液中蛋白酶的水解作用。30%～50%金黄色葡萄球菌可产生肠毒素，已鉴定的有A，B，C1，C2，C3，D，E，G和H 9个血清型。近来研究发现，葡萄球菌肠毒素是超抗原，能非特异性激活T细胞，释放过量的细胞因子（如TNF，IL-1，IFN-γ）而致病。食物如被葡萄球菌产毒株污染，在合适温度下，经8～10小时，即可产生大量的肠毒素。食用含有肠毒素的食物，毒素与肠道神经细胞受体作用，刺激呕吐中枢，引起呕吐等急性胃肠炎表现，称为食物中毒。发病率占食物中毒的首位。

5. 剥脱毒素（exfoliatin） 由蛋白质组成，分A和B两个血清型。A型由位于金黄色葡萄球菌染色体上的噬菌体基因组编码；B型则由RW002质粒编码。只有新生儿皮肤存在的GM_4样糖脂能与剥脱毒素结合，结合后毒素发挥丝氨酸蛋白酶功能，裂解细胞间桥小体（desmosomes），破坏皮肤细胞间的连接，引起葡萄球菌烫伤样皮肤综合征（staphylococcal scalded skin syndrome，SSSS）。损伤皮肤中既无细菌也无白细胞。疾病恢复主要依靠中和抗体。

6. 毒性休克综合征毒素-1（toxic shock syndrome toxin-1，TSST-1） 曾称致热外毒素C和肠毒素F，是某些金黄色葡萄球菌在生长过程中分泌的一种外毒素。该毒性蛋白由细菌染色体编码，含有194个氨基酸，相对分子质量约为2049，是毒性休克综合征（toxic shock syndrome，TSS）的主要物质。

金黄色葡萄球菌可引起侵袭性和毒素性两种疾病：

（1）侵袭性疾病：主要引起化脓性感染。金黄色葡萄球菌可通过多种途径侵入机体，引起局部组织、内脏器官或全身性化脓感染。局部感染主要表现为疖、痈、甲沟炎、麦粒肿、蜂窝织炎、伤口化脓等，内脏器官感染如肺炎、脓胸、中耳炎、脑膜炎、心包炎、心内膜炎等。全身感染如败血症、脓毒血症等。

（2）毒素性疾病：由外毒素引起。

1）食物中毒：人摄入含肠毒素污染的食物后1～6小时，即可出现头晕、恶心、呕吐、腹泻等急性胃肠炎症状。发病1～2天可自行恢复，预后良好。抗生素等原因造成菌群失调所致的假膜性肠炎，现认为主要由艰难梭菌引起，金黄色葡萄球菌仅为伴随细菌。

2）烫伤样皮肤综合征：由表皮剥脱毒素引起。多见于新生儿。患者皮肤呈弥漫性红斑，起皱，继而形成水疱，导致表皮脱落。如伴有继发性细菌感染，可引起死亡。

3）毒性休克综合征：由TSST-1引起。主要表现为高热、低血压、呕吐、腹泻、猩红热样皮疹，严重者出现休克。过去，毒性休克综合征多见于使用月经塞的经期妇女。近几年发现许多病例与月经无关，且TSST-1并非是唯一病因，细菌内毒素、葡萄球菌肠毒素等也与毒性休克综合征的发病有关。

人对金黄色葡萄球菌有一定的天然免疫力。当皮肤黏膜发生损伤或机体抵抗力降低时才易引起感染。病后能获得一定的免疫力，但作用不强，一般认为不足以预防再次感染。

（三）微生物学检查

临床标本有穿刺液、脓汁、分泌液、脑脊液、胸腹水、血液等。食物中毒则收取剩余食物和呕吐物。

1. 涂片染色　标本经直接涂片染色后镜检，可根据细菌形态、排列方式和染色性作初步诊断。

2. 分离培养　常用血琼脂平板，或经肉汤培养基增菌后接种血琼脂平板。根据菌落特点再做涂片染色检查、甘露醇发酵等。葡萄球菌分离株一般均应做药物敏感试验。

3. 血浆凝固酶试验　区别金黄色葡萄球菌与凝固酶阴性葡萄球菌。

4. 肠毒素检测　食物中毒患者的标本，可用ELISA检测肠毒素，方法简便敏感，可检测微量肠毒素。

5. 分子生物学技术　目前正在发展分子检查方法，有核糖体分型、PCR和脉冲场电泳等方法，检测和分析细菌质粒和基因组DNA，用于疾病诊断和流行病学调查。

（四）防治原则

随着耐药菌株日益增多，必须避免滥用抗生素，要根据药敏试验结果选用适宜的抗菌药物。对慢性反复感染的患者，可试用自身菌苗疗法。注意个人卫生，及时处理皮肤黏膜损伤；医院内做好消毒隔离，防止医源性感染；对饮食服务业加强卫生管理，防止引起食物中毒等措施均可预防葡萄球菌感染。

二、凝固酶阴性葡萄球菌

凝固酶阴性葡萄球菌（coagulase-negative staphylococci，CNS）存在于健康人的皮肤、口腔及肠道中。目前已发现的CNS有表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌等十余种。近年来，临床及实验室工作证明，CNS是医院感染的重要病原菌，亦是创伤、尿道、中枢神经系统感染和败血症的常见病原菌。

（一）生物学性状

CNS为革兰阳性球菌，不产生血浆凝固酶、α溶素等毒性物质。最常见的是表皮葡萄球菌和腐生葡萄球菌。它们的细胞结构与金黄色葡萄球菌基本相似，而主要生物学性状的差异见表7-3。

（二）致病性

CNS是皮肤、黏膜的正常菌群，当机体免疫功能低下或进入非正常寄居部位时，可引起多种感染。据美国疾病控制中心统计，CNS在各类感染中的比例仅次于大肠埃希菌，居病原菌第二位。关于CNS的致病机制可能与其产生黏质（slime）有关。黏质由中性糖类、糖醛酸和氨基酸组成。黏质

表7-3 常见葡萄球菌主要生物学性状的差异

试验	金黄色葡萄球菌	表皮葡萄球菌	腐生葡萄球菌
菌落色素	金黄色或灰白色	白色	白色或柠檬色
血浆凝固酶	+	-	-
甘露醇发酵	+	-	-
葡萄糖	+	+	-
新生霉素	敏感	敏感	耐药
A蛋白	+	-	-

使细菌黏附在细胞表面，菌体之间借此相互粘连。菌体被黏质包围后，能保护细菌免受中性粒细胞的吞噬和减弱抗生素的渗透。如表皮葡萄球菌能产生大量黏质，此黏质有助于延长表皮葡萄球菌的感染病程，干扰正常的免疫应答。另外，腐生葡萄球菌能选择性地吸附于尿道上皮细胞，这对其定植及引起感染有一定作用；溶血葡萄球菌的溶血性与其致病性也有关系。CNS引起的常见感染有以下几种：

1. 泌尿系统感染　CNS是引起青年妇女急性膀胱炎的主要致病菌。引起尿路感染仅次于大肠埃希菌。常见的有表皮葡萄球菌、人葡萄球菌和溶血葡萄球菌。而腐生葡萄球菌则是引起青年人原发性泌尿道感染的常见菌。

2. 败血症　CNS是血培养中常见的病原菌，特别是新生儿败血症。CNS居败血症常见病原菌的第三位，仅次于大肠埃希菌和金黄色葡萄球菌。常见的有溶血葡萄球菌和人葡萄球菌，也可为表皮葡萄球菌。

3. 术后感染　CNS是引起外科感染的常见病原菌。骨和关节修补术、器官移植，特别是心瓣膜术后的感染多为CNS引起。

4. 植入性医用器械引起的感染　20%～65%的导管、动脉插管和心脏起博器等植入性医用器械所致的细菌性感染是由CNS引起。重危患者通常较长期使用植入性医用器械，由此引发的感染已成为主要医学问题。CNS产生由多糖组成的黏质，使细菌牢固黏附于导管等植入性医用器械，并保护细菌免于抗生素和炎性细胞的作用，故当植入体内后特别适合CNS黏附和生长，黏附在导管等器械上的细菌不断释放至血液，使患者持续出现菌血症，有些患者伴有免疫复合物介导的肾小球肾炎。人工关节也可被CNS感染，患者通常仅感觉局部疼痛，人工关节活动受阻，发热和白细胞增多不是主要症状，而且血培养往往阴性。处理主要是用抗生素治疗或替换人工关节。

（三）微生物学检查法

一般说来，根据凝固酶、甘露醇试验及色素检查较易区别CNS与金黄色葡萄球菌，对CNS的鉴定尚未有特定的方法，需利用常规生化试验、质粒图谱、耐药谱等联合分析加以鉴定。

（四）防治原则

CNS感染多为医院感染，手术伤口有可能被来自患者自身、医护人员及空气中的CNS感染，因此，选择对CNS敏感的消毒剂，加强术前、术后患者皮肤、医护人员手、空气、环境等的消毒，对控制CNS引起的医院感染将起到重要作用。

另外，CNS耐药率及多重耐药率较高，这与耐药质粒有关，可通过转化、转导等方式进行耐药性转移；也与某些抗生素作为首选药长期广泛使用有关。目前研究表明，CNS对万古霉素、诺氟沙星及阿米卡星耐药率低，可考虑单独或联合应用治疗CNS的感染。

第二节　链球菌属

链球菌属（*Streptococcus*）的细菌是革兰阳性球菌，成双或长短不一的链状排列细菌。此属细

菌种类多、分布广，有些为人体正常菌群，另些则为人类的致病菌。医学上重要的链球菌见表7-4。

表7-4 医学上重要的链球菌

链球菌	诊断相关特性	所致疾病
化脓性链球菌	杆菌肽敏感	咽炎，脓疱疮，风湿热，肾炎
无乳链球菌	杆菌肽不敏感，水解马尿酸盐	新生儿败血症和脑膜炎
牛链球菌	不耐6.5% NaCl	心内膜炎，败血症
肺炎链球菌	胆盐和optochin均敏感	肺炎，脑膜炎，心内膜炎
草绿色链球菌	胆盐和optochin均不敏感	龋齿，心内膜炎
猪链球菌	分解七叶灵，不发酵甘露糖	脑膜炎，败血症，心内膜炎

一、链球菌的结构和分类

（一）链球菌的结构

链球菌（streptococci）为球状或椭圆形，多数以链状排列，有的可呈短链或双球状。多数链球菌有透明质酸组成的荚膜，尤以幼龄菌为明显。肺炎链球菌的荚膜是多糖。在A组链球菌，M蛋白与脂磷壁酸相连，形成菌毛样结构。链球菌细胞壁含有M、T等蛋白抗原、群特异性C多糖抗原和肽聚糖（图7-2）。

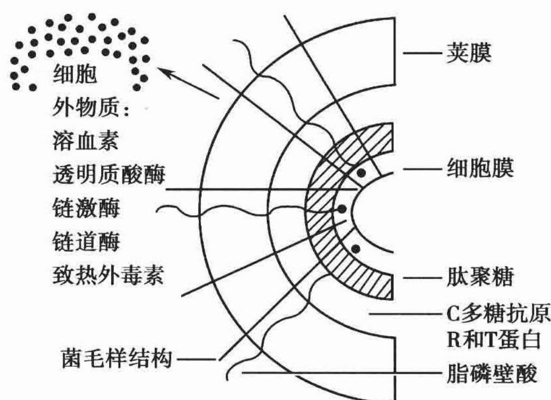


图7-2 链球菌抗原结构模式图

1. C多糖抗原　为群特异性抗原，抗原性由氨基糖决定。A群链球菌为鼠李糖-*N*-乙酰葡糖胺，B群为鼠李糖-葡糖胺多糖，C群为鼠李糖-*N*-乙酰半乳糖胺，D群为含有D-丙氨酸和葡萄糖的甘油型胞壁酸。

2. M蛋白　为A群链球菌的主要毒力因子，亦发现在C和G群链球菌。M蛋白与人心肌有交叉反应，是风湿热的重要致病因子。纯化M蛋白诱生的抗体能作用于人心肌组织。M蛋白分Ⅰ类和Ⅱ类，Ⅰ类M蛋白的C恒定区在表面，易与抗体结合，是风湿热的重要致病物质，仅含Ⅰ类M蛋白的菌株引起风湿热；Ⅱ类M蛋白的C恒定区在内部，不与抗体结合。M蛋白与血清β球蛋白H因子结合后，具有抗补体C3介导的调理作用；菌毛样M蛋白是细胞壁上突起，具有型特异性，并能抵抗中性粒细胞的吞噬作用。

3. 其他蛋白　M样蛋白即为免疫球蛋白结合蛋白，能与IgG、IgM结合。T蛋白与链球菌的毒力无关，对酸和热不敏感，多为共同抗原，可用于某些链球菌的分型。

（二）链球菌的分类

近十年来，链球菌分类有所改动，将粪链、尿链归为肠球菌属，乳球菌等另立门户，草绿色链球菌组成新菌群。分类方法尚未统一，常用的有：

1. 溶血现象分类　根据链球菌在血琼脂平板上是否产生溶血分为三类：

（1）甲型溶血性链球菌（*α-hemolytic streptococcus*）：菌落周围有狭窄的草绿色溶血环，故亦称草绿色链球菌（*Streptococcus viridans*）。此绿色物质可能是细菌产生的H_2O_2破坏血红蛋白所致。除肺炎链球菌等，这类链球菌多为机会致病菌。

（2）乙型溶血性链球菌（*β-hemolytic streptococcus*）：菌落周围形成较宽的透明溶血环，故亦称溶血性链球菌（*streptococcus hemolyticus*）。溶血环中红细胞完全溶解。此型链球菌致病力强，可引起多种疾病。

（3）丙型链球菌（*γ-streptococcus*）：菌落周围无溶血环，故亦称非溶血性链球菌（*streptococcus*

non-hemolyticus）。一般不致病，偶尔引起泌尿系统感染或亚急性细菌性心内膜炎。

2. 抗原结构分类　Lancefield血清学分群是根据C多糖抗原不同，将链球菌分成A～V共20群。对人致病的多为A群，B、C、D、G群偶见。同群链球菌间，因M抗原不同又分若干型，其中A群链球菌分100多个型，B群分4个型，C群分13个型。链球菌菌群与溶血无平行关系，但对人类致病的A群链球菌多数呈现乙型溶血。血清群与种无严格对应关系，有些群与种吻合；有些群包括多个菌种等。

3. 生化反应分类　肺炎链球菌、某些α溶血性链球菌和非溶血性链球菌不具有群特异性抗原，须根据其生化反应和对药物的敏感性等进行鉴定。表7-5列举了医学上重要的常见致病性链球菌的分类。

表7-5　常见致病性链球菌分类

生化分类	血清群	溶血反应
化脓性链球菌	A	β溶血
咽峡炎链球菌	A C F G 有些无群抗原	β溶血，偶见α溶血或不溶血
无乳链球菌	B	β溶血，偶见不溶血
停乳链球菌	C G	β溶血
牛链球菌	D	α溶血或不溶血，偶见β溶血
草绿色链球菌	多数无群抗原	α溶血或不溶血
肺炎链球菌	无群抗原	α溶血
猪链球菌	C D F L	α溶血或β溶血

二、化脓性链球菌

化脓性链球菌（*Streptococcus pyogenes*）又称A群链球菌（group A streptococcus），占链球菌感染的90%，是链球菌中致病力最强的细菌。

（一）生物学性状

革兰阳性，球形或卵圆形，直径0.6～1.0μm，常排列成链状。在液体培养基中形成长链，在固体培养基为短链。无芽胞，无动力。培养早期（2～4小时）形成由透明质酸组成的荚膜，随着培养时间的延长，由于细菌产生透明质酸酶而使荚膜逐渐消失。营养要求较高，在含血液、血清、葡萄糖的培养基中才生长良好。在血平板表面，菌落周围形成较宽的透明溶血环。对杆菌肽敏感。能发酵简单的糖类，产酸不产气。与葡萄球菌不同的是触酶阴性。

（二）致病性和免疫性

化脓性链球菌短暂或长期定居于上呼吸道，在干燥物体表面或尘埃中可生存数月。通过飞沫、直接接触传染或污染物传播。15岁以下儿童感染主要表现为咽喉炎；以前感染过儿童或老人的再感染与超敏反应性疾病的发生有关。较差的个人卫生状况与皮肤感染有关等。与化脓性链球菌致病有关的物质：

1. 黏附素　化脓性链球菌与人上皮细胞的黏附依赖于上皮细胞表面的纤连蛋白（fibronectin，Fn）。纤连蛋白为受体，能与菌体表面的脂磷壁酸（LTA）、M蛋白等黏附素结合，同时M蛋白具有抗吞噬功能，使细菌在宿主体内定居和繁殖。

2. 链球菌溶血素（streptolysin）　链球菌溶血素O（streptolysin O，SLO）为含有－SH基的蛋白质，对氧敏感，遇氧时，－SH被氧化成－SS－基而失去溶血活性。此毒素能破坏白细胞和血小板，对心肌有急性毒性作用。SLO抗原性强，85%～95%链球菌感染所致的咽喉炎和风湿热患者，于感染后2～3周至病愈后数月至1年内可检出抗“O”抗体（antistreptolysin O，ASO）。尤

其是活动性风湿热，ASO升高更显著。因此检测ASO可作为链球菌感染和风湿热的辅助诊断。但在皮肤脂质中的胆固醇则能抑制SLO，故化脓性链球菌引起的皮肤感染及与皮肤感染相关的肾小球肾炎中，ASO不会升高；链球菌溶血素S（streptolysin S，SLS）的产生需要血清（serum），故命名为SLS。SLS对氧稳定，血平板上菌落周围的溶血环即SLS所致。它是小分子糖肽，无抗原性，对白细胞和多种组织细胞有破坏作用。细菌被吞噬后，SLS能损伤溶酶体，引起吞噬细胞的死亡。

3. 致热外毒素（pyrogenic exotoxin） 又称红疹毒素或猩红热毒素，是人类猩红热的主要毒性物质，能引起发烧和皮肤疹子等。该毒素由温和噬菌体基因编码，为蛋白质，分A、B、C三个血清型，抗原性较强，能刺激机体产生抗毒素。致热外毒素是超抗原，具有超抗原生物学活性。

4. 侵袭性酶 都是扩散性因子，以不同的作用方式促进链球菌向周围组织或经淋巴、血流扩散。其中透明质酸酶可分解组织中的透明质酸，使组织通透性增加；链激酶（streptokinase，SK）能使血液中纤维蛋白酶原变成纤维蛋白酶，故可溶解血块或阻止血浆凝固；DNase又称链道酶（streptodornase，SD），根据抗原性不同分A、B、C和D，均能降解脓液中高度黏稠的DNA，使脓液变稀，有利细菌扩散。产生的抗DNase B抗体可作为皮肤化脓性链球菌感染的重要指标。

化脓性链球菌引起三类疾病：

1. 化脓性感染 有咽炎、脓皮病、丹毒、蜂窝组织炎、坏死性筋膜炎、链球菌毒性休克综合征、产褥热、淋巴管炎、肺炎等各组织系统的感染。其中坏死性筋膜炎（necrotizing fascitis）是细菌通过破损的皮肤伤口进入深部皮下组织，引起广泛性肌肉和脂肪坏死。开始为蜂窝组织，以后发生大泡和坏疽以及全身性症状，严重者出现多脏器功能衰竭和死亡。链球菌中毒休克综合征（streptococcal toxic shock symdrome，STSS）是链球菌侵入呼吸道、破损皮肤以及流产后阴道感染等引起。表现为上呼吸道感染、高热、咽痛、皮疹、肢体剧烈疼痛、坏死性筋膜炎和肌炎、休克、多脏器功能衰竭等严重症状。主要由化脓性链球菌引起，亦报道由缓症链球菌和无乳链球菌等引起。

2. 毒素性疾病 指猩红热，是一种急性传染病。传染源为患者和带菌者，经呼吸道传播，潜伏期平均为3天。临床特征为发热、咽峡炎、全身弥漫性皮疹和疹退后皮肤脱屑。

3. 非化脓性感染 主要是链球菌感染后发生的风湿热和急性肾小球肾炎，亦属于超敏反应性疾病。

（1）风湿热：由化脓性链球菌中多种型别（如M18、M3、M5）引起。5～12岁的孩子较多见，感染咽峡炎后有3%的病孩发生风湿热，主要表现为多发性关节炎、心肌炎、心内膜炎、心包炎等。发病机制可能是免疫复合物沉积于心瓣膜或关节滑膜上所致；亦可能是化脓性链球菌的抗原与上述组织间存在共同抗原，由交叉免疫反应造成病理损伤。但是皮肤感染的链球菌不会引起风湿热。

（2）急性肾小球肾炎：儿童中大多数急性肾炎属链球菌感染后的急性肾小球肾炎。引起咽峡炎和皮肤感染的链球菌都可发生急性肾小球肾炎，多见的是M12、M4、M2和M49型。主要表现为浮肿、尿少、血尿、蛋白尿、高血压等。病程1个月左右，多能自愈，很少转为慢性，预后良好。发病机制可能是链球菌的M蛋白与相应抗体结合后，在一定条件下形成中等大小的可溶性免疫复合物，沉积于肾小球基底膜，通过Ⅲ型超敏反应机制造成炎症损伤；亦可能是某些链球菌菌株的抗原与肾小球基底膜有共同抗原，通过Ⅱ型超敏反应机制损伤基底膜。

免疫性 链球菌感染后，机体可获得一定的免疫力，但因其型别多，各型之间无交叉免疫性，故可反复感染。感染猩红热后，具有抗同型链球菌再感染的免疫力，但对异型则无免疫力。

（三）微生物学检查法

1. 涂片染色 脓液等标本可直接涂片，染色镜检，发现链状排列球菌可作初步诊断。

2. 分离培养 脓汁或棉拭子直接接种血琼脂平板，疑为败血症的血液标本，增菌后再分离培养。37℃孵育24小时后，如有β溶血的菌落应与葡萄球菌鉴别；有α溶血的菌落要与肺炎链球菌鉴别。疑为草绿色链球菌所致细菌性心内膜炎的血培养应观察3周。

3. PYR试验 PYR（L-pyrrolidonyl arylamidase）是化学试剂L-吡咯酮β奈胺的简称，用于检

测氨基肽酶。PYR被分解后释放奈胺，加入*N-N-*二甲氨基肉桂醛试剂，1分钟内产生桃红色。化脓性链球菌PYR试验阳性，咽峡炎链球菌等其他β溶血链球菌则为阴性

4. ASO试验 是毒素和抗毒素的中和试验。对可疑风湿热或急性肾小球肾炎患者，可进行抗链球菌溶血素“O”抗体测定，简称ASO试验。ASO试验是用链球菌溶血素“O”作为抗原，检测血清中ASO，如血清中ASO超过400单位即有诊断意义。

5. 抗DNase B试验 在皮肤化脓性链球菌感染中，ASO不会升高，但抗DNase B抗体则为升高。如果怀疑链球菌所致的肾小球肾炎中，未见ASO升高，则应作抗DNase B试验。

（四）防治原则

注意个人卫生，保护皮肤黏膜，防止化脓性感染。注意器械、敷料等的消毒。对猩红热患者，在治疗的同时应进行隔离。对急性咽峡炎和扁桃体炎患者，应及时彻底治疗，以防风湿病和急性肾小球肾炎的发生。青霉素为首选治疗药物。

三、肺炎链球菌

肺炎链球菌（*S. pneumoniae*）简称肺炎球菌（pneumococcus）。正常人呼吸道带菌率可达40%～70%，多数菌株不致病或致病力弱，仅少数菌株对人致病，是细菌性肺炎的主要病原菌。

（一）生物学性状

革兰阳性双球菌，菌体呈矛头状，宽端相对，尖端向外。在血平板上的肺炎链球菌菌落与甲型溶血性链球菌相似，在有氧条件下培养，在血平板上形成α溶血环，α溶血与肺炎链球菌溶血素（pneumolysin）有关；在厌氧条件下生长，则产生β溶血环。肺炎链球菌能产生自溶酶（amidase），故若孵育时间＞48小时，则菌体溶解，菌落中央下陷呈脐状。若在血清肉汤中孵育，初期呈混浊生长，稍久因菌自溶使培养液渐变澄清。自溶酶可被胆盐等表面活性剂激活，从而促进培养物中的菌体溶解。该菌有荚膜，根据荚膜特异性多糖抗原性不同，分为84个血清型。

（二）致病性和免疫性

有荚膜的肺炎链球菌抵抗力较强，在无阳光照射的干痰中可存活1～2个月。虽有40%～60%的人群有时成为带菌者，但正常的呼吸道黏膜均有抗肺炎球菌感染的天然抵抗力。仅在抵抗力下降的情况下易受细菌感染。与感染有关的主要因素：①病毒和其他微生物感染损伤呼吸道表面细胞以及黏液积聚妨碍吞噬细胞吞噬被黏液包被的细菌或支气管阻塞等所致的呼吸道异常；②酒类或药物中毒均可抑制吞噬细胞和咳嗽反射功能，引起异物的吸入；③心衰等循环系统异常；④其他：还有营养不良、过渡疲劳等均是肺炎球菌感染的诱发因素。

荚膜是肺炎链球菌的主要毒力因子，细菌一旦失去荚膜就失去了致病力。如有荚膜的肺炎链球菌只需数个就可致实验小鼠于死地，而无荚膜株则要高达上亿个菌才能杀死1只小鼠。肺炎链球菌荚膜是特异性可溶性多糖，游离荚膜多糖与抗体结合使细菌逃逸吞噬作用。

肺炎链球菌溶血素（pneumolysin）能与细胞膜上胆固醇结合，使细胞膜出现小孔，导致细胞溶解，包括羊、兔、马及人的红细胞，也能破坏纤毛化上皮细胞和吞噬细胞。肺炎链球菌溶血素能活化补体经典途径，产生C3a和C5a，吸引白细胞，释放LI-1和TNF-a，引起发热、组织损伤等表现。产生的分泌性IgA蛋白酶能破坏分泌性IgA介导的黏膜免疫。由于受肺炎链球菌细胞壁成分磷壁酸和肽聚糖的刺激，引起炎症反应，使肺泡含大量渗出液，渗出液伴有大量细菌和少量炎性细胞。细菌通过渗出液扩散并感染其他肺组织。同时细菌也能吸引大量中性粒细胞进入肺泡，最后与巨噬细胞一起将细菌清除。肺炎链球菌的毒力因子见表7-6。

肺炎链球菌主要引起人类大叶性肺炎，其次是支气管炎。成人肺炎多数由1、2、3型肺炎链球菌引起，儿童的大叶性肺炎以14型最常见。肺炎后可继发中耳炎、乳突炎、肺脓肿、脑膜炎和败血症等。

感染后出现抗肺炎链球菌荚膜多糖的特异性抗体，可获得型特异性免疫。

表 7-6　肺炎链球菌的毒力因子

毒力因子	主要功能
表面蛋白黏附素	引起细菌黏附与结合于上皮细胞表面
荚膜	抗吞噬功能
分泌性IgA蛋白酶	破坏分泌性IgA介导的免疫清除作用
肺炎链球菌溶血素	损伤纤毛化上皮细胞；抑制吞噬细胞的呼吸暴发，阻断有氧杀菌作用；活化补体经典途径，引起炎症反应
磷壁酸和肽聚糖	活化补体替代途径，引起炎症反应
磷酸胆碱	与磷酸二酯酶活化因子结合，使细菌容易进入细胞内
过氧化氢	产生活性氧引起损伤

（三）微生物学检查

根据病变部位，采取痰液、脓液、血液或脑脊液等。可直接涂片镜检，如发现典型的革兰阳性具有荚膜的双球菌，即可初步诊断。血平板上肺炎链球菌菌落周围有草绿色溶血环，应与草绿色链球菌鉴别，常用的方法：

1. 胆汁溶菌试验　菌液中加入10%去氧胆酸钠或2%牛磺胆酸钠，或牛、猪、兔等新鲜胆汁，置室温或37℃，在5～10分钟内出现细菌溶解，培养液变清者为阳性。胆汁溶菌试验是鉴别肺炎链球菌和甲型溶血性链球菌的可靠方法。

2. Optochin试验　方法类似药敏试验。待试菌涂布于血平板表面，再将含有一定量的Optochin滤纸片贴于平板涂菌处。于37℃ 48小时后观察抑菌圈的大小，肺炎链球菌抑菌圈的直径常在20mm以上，甲型溶血性链球菌 < 12mm。

3. 荚膜肿胀试验（quellung reaction）　在玻片上，肺炎链球菌与抗荚膜抗体混合，在显微镜下见有荚膜明显肿胀。如用单价特异抗体检查，可用于肺炎链球菌的分型；如用多价抗血清与新鲜痰标本混合，则可快速检测标本中肺炎球菌，用于疾病的快速诊断。

（四）防治原则

制备多价荚膜多糖菌苗是预防肺炎球菌感染的主要措施。目前美国已制成23价荚膜多糖菌苗，对预防老年、儿童、慢性病患者等高危人群的感染具有重要价值。肺炎链球菌感染可用青霉素治疗，对少数青霉素、头孢菌素类耐药菌可选用万古霉素治疗。

四、其他医学相关链球菌

（一）草绿色链球菌

草绿色链球菌（Viridans streptococci）为人口腔及上呼吸道正常菌群。典型细菌为α溶血，但亦可出现非溶血型。至少有24个种，较常见的是变异链球（*S. mutans*）、唾液链球菌（*S. salivarius*）、牛链球菌（*S. bovis*）、缓症链球菌（*S. mitis*）、肺炎链球菌和咽峡炎链球菌（*S. anginosus*）等，共同组成草绿色链球菌群（viridans group streptococci）。

1. 变异链球菌　与龋齿密切相关。该菌不产生外毒素也无内毒素，但能产生葡糖基转移酶，分解蔗糖产生高分子量、黏性大的不溶性葡聚糖以构成牙菌斑的基质，使口腔中大量细菌黏附于此，其中乳杆菌能发酵多种糖类产生大量酸，使pH降至4.5左右，导致牙釉质脱钙，造成龋损。

2. 咽峡炎链球菌（*S. anginosus*）　具有A、C、F、G荚膜多糖抗原，产生小菌落，伴有窄β溶血环。主要与脓肿形成有关，但不引起咽峡炎。当拔牙或摘除扁桃体时，细菌可侵入血流引起菌血症，一般情况下，血中细菌短时间即被清除，不会引起疾病，若心瓣膜有病损或用人工瓣膜者，细菌就可停留繁殖，引起亚急性细菌性心内膜炎。

3. 牛链球菌（*S. bovis*）　起源于β溶血的D群链球菌，但大多数分离株为α溶血，PYR阴性。

能耐受胆盐和水解七叶灵，但在含6.5% NaCl的培养基上不能生长。偶尔引起心肌炎。其临床意义与结肠恶变患者发生的败血症有关。

（二）无乳链球菌和停乳链球菌

1. 无乳链球菌（*S.agalactiae*） 能引起牛乳房炎，危害畜牧业，因而早为兽医界注目。20世纪70年代后发现，该菌感染不只限于牛乳房炎，亦能感染人类，尤其是新生儿，引起败血症、脑膜炎、肺炎等，死亡率较高。无乳链球菌细胞壁C多糖物质又属B群抗原，故亦称B群链球菌（group B streptococcus，GBS）。无乳链球菌有窄β溶血环，对杆菌肽不敏感，能水解马尿酸盐。无乳链球为上呼吸道正常菌群。正常妇女阴道和直肠带菌率达30%左右，是新生儿感染的主要传染来源。引起新生儿肺炎、败血症和脑膜炎。近年来感染率不断升高，病死率高达15%，且有神经后遗症，故已引起广泛关注。本菌对成人侵袭力弱，但机体防御功能低下时，也可引起皮肤感染、心内膜炎、产后感染、肾盂肾炎等。

无乳链球菌产生CAMP因子（Christie，Atkins，Mundi-Petersen）。CAMP因子为耐热性蛋白，容易扩散。金黄色葡萄球菌β溶素为神经鞘磷脂酶C（sphingomyelinase C），能水解细胞膜磷脂。CAMP因子与神经鞘磷脂酶C作用，能促进金黄色葡萄球菌的β溶血，故可用CAMP试验检测无乳链球菌。

2. 停乳链球菌（*S. dysgalactiae*） 具有C或G群抗原，产生大菌落，伴有大β溶血环。类似化脓性链球菌，能引起咽喉炎，有时会并发肾小球肾炎，但不引起风湿热。

（三）猪链球菌

猪链球菌（*Streptococcus suis*）在自然界和猪群中广泛分布，常存在于哺乳动物和人体内。猪链球菌是人兽共患病病原体。世界动物卫生组织将其列为B类疫病。1968年丹麦报道首例人感染猪链球菌后，猪链球菌病在北美洲、南美洲、欧洲等地均有所增加。日本、韩国、泰国和新加坡等亦先后报道人感染猪链球菌。在我国江苏和四川的部分地区亦出现猪链球菌-2型暴发流行导致人员死亡的报道。

猪链球菌是革兰阳性球菌，属兼性厌氧菌。Lancefield根据链球菌C多糖抗原的分类原则，猪链球菌归为C、D、F及L群链球菌。由于猪链球菌荚膜抗原的不同，可分35 个血清型，但尚有菌株难以定型。感染人的主要是猪链球菌-2型。培养猪链球菌-2型时，在绵羊血平板出现α溶血，马血平板则为β溶血。菌落呈半透明或浅灰色。生化反应为发酵乳糖、蔗糖、七叶灵，不发酵甘露糖、阿拉伯糖等。

猪链球菌属机会致病菌，可通过破损皮肤、鼻咽部的损伤及呼吸道传给人。脾切除、糖尿病患者、酒精中毒及肿瘤均是易感者。易感人群为饲养员、屠宰厂工人及从事猪肉销售加工的人员等。据文献报道，对猪链球菌-2型血清反应阳性的亚临床感染人中，9%为奶牛场主，10%为肉品检验员及21%为猪场主。目前尚无在人与人间传播的报道。对猪链球菌的致病物质尚在研究中，其中黏附素能黏附于细胞表面，与感染有关；荚膜具有抗吞噬功能，保护细菌免于吞噬细胞被吞噬；溶菌酶释放蛋白（muramidase-released protein，MRP）为细菌的胞壁蛋白，是猪链球菌重要的毒力因子，具有黏附上皮细胞，诱导上皮细胞和巨细胞凋亡，促进猪链球菌-2型对宿主的感染；胞外蛋白因子（extracellular protein factor，EPF）仅能从细菌培养上清液中检出，在致病过程中起重要作用；猪溶血素（suilysin，SLY）是细菌生长过程中分泌的蛋白质，能破坏脉络丛上皮细胞，突破血-脑脊液屏障，引起脑膜炎；此外还有纤连蛋白结合蛋白等毒力因子。人被猪链球菌-2型感染，临床表现较为严重，可出现脑膜炎、败血症、心内膜炎和耳聋等，严重者可致死亡。

猪链球菌对外界环境有较强的抵抗力，在水中可存活1～2周。在4℃，死猪体内细菌可存活6周。在冬春季的灰尘中生存30天，粪便中则生存90天。猪链球菌对热的抵抗力较弱，一般在60℃水中仅存活10分钟，50℃为2小时。猪链球菌对常用的消毒剂敏感，约作用1分钟即被杀死。

第三节 肠 球 菌 属

肠球菌属（*E. enterococcus*）广泛分布于自然界，是人和动物肠道较为常见的细菌。肠球菌是机会致病菌，是医院内感染的重要病原菌之一。肠球菌细胞壁较厚，对多种抗生素产生耐药，造成抗感染治疗的困难。

一、生物学性状

肠球菌为典型的革兰阳性球菌，呈成双或短链排列，故与肺炎链球菌很难区别。兼性厌氧菌，在血平板培养基上生长时，可形成灰白色、不透明、表面光滑、直径0.5～1mm大小的圆形菌落。通常为非溶血性或偶见α溶血的菌落。触酶试验多为阴性，但有时为弱阳性。PYR（L-pyrrolidonyl-2-naphthylamide）阳性、水解七叶苷。与链球菌不同的是它能在pH9.6 含有65g/L NaCl和400g/L 胆盐培养基中生长，并对多种抗生素表现为固有耐药。

肠球菌（enterococci）能与D群链球菌抗血清反应，有与细胞膜相连的甘油型磷壁酸，故曾被称D群链球菌，包括肠链球菌和非肠链球菌。根据细菌生理特性和DNA同源性差异，于1984年，将肠链球菌从D群链球菌中分离出来，另立为肠球菌属，现包括29个种。与人类有关的是粪肠球菌（*E. faecalis*）和屎肠球菌（*E. faecium*）。在患者标本分离菌中，粪肠球菌占85%～95%、屎肠球菌占5%～10%，少数为坚韧肠球菌和其他肠球菌。鹑鸡肠球菌（*E. gallinarum*）和铅黄肠球菌（*E. casseliflavus*）常发现在人肠道，虽是非致病菌，但对万古霉素具有固有耐药性，应特别引起重视。

二、致病性

肠球菌是肠道正常菌群，通常定居于肠道和女性泌尿、生殖道。在每克粪便中，有10^7的粪肠球菌，但屎肠球菌则较为少见。肠球菌为机会致病菌，容易在年老体弱、表皮和黏膜破损以及抗生素使用不当等条件下产生感染。可引起泌尿系统、腹腔、伤口等感染，亦可引起心内膜炎和菌血症等。近年来，由于免疫抑制剂的广泛使用、侵入性治疗机会的增加以及过度使用抗生素等原因，使肠球菌所致感染逐年增加，已成为医院感染的主要致病菌之一。肠球菌感染为内源性感染，归于自身的肠道菌群。但在医院内，耐药肠球菌可在患者之间传播，且护士及其他医务人员可携带耐药肠球菌，亦是造成医院感染的重要原因。

肠球菌有多种致病物质。其中脂磷壁酸与黏附素可使细菌黏附定植于肠道、泌尿道上皮细胞及心内膜细胞。集聚因子（aggregation substance）、细胞溶素（cytolysin）、信息素（Pheromone）和明胶酶（Gelatinase）等都具有各自的功能（表7-7）。肠球菌的耐药基因存在于质粒和染色体上，编码的蛋白具有抗β-内酰胺酶、氨基糖苷类抗生素和万古霉素的功能，亦与该菌的毒力相关。

表7-7 肠球菌毒力因子

毒力因子	生物学功能
集聚因子	菌细胞膜上的毛样蛋白，引发质粒交换和与上皮细胞结合
肠球菌表面蛋白	粪肠球菌表面，属胶原蛋白结合黏附素，有利于细菌黏附
碳水化合物黏附素	介导与宿主细胞表面的结合
细胞溶素	属细菌素蛋白，能抑制革兰阳性菌生长，诱导局部组织损伤
信息素	其中中性粒细胞化学趋化因子，参与炎症反应
明胶酶	水解明胶、胶原蛋白、血小板和其他小肽

三、微生物学检查

根据感染部位的不同分别收集脓液、尿液、穿刺液和血液等标本。

1. 直接涂片镜检　可见单个、成双或短链状排列的革兰阳性球菌。

2. 分离培养　将标本接种于血平板或选择性培养基（如胆汁七叶苷琼脂）进行分离培养。

3. 细菌鉴定　分离到的细菌需作如下试验：①PYR试验：快速鉴定产生氨基肽酶的细菌，肠球菌为阳性；②盐耐受试验：能区别肠球菌与非肠球菌，肠球菌能在含6.5% NaCl培养基中生长。再利用胆汁-七叶苷试验和血清学方法对肠球菌作出鉴定。

4. 耐药性试验　肠球菌对常规剂量氨基糖苷类的耐药和对万古霉素的低度耐药常为固有耐药。对氨基糖苷类和万古霉素的高水平耐药为获得性耐药。

四、防治原则

由于肠球菌对抗生素耐药性的增加，产β-内酰胺酶肠球菌及耐高浓度氨基糖苷类抗生素和万古霉素肠球菌的出现，给临床治疗造成很大困难，已引起广泛的重视。肠球菌感染的治疗应重视药物敏感试验。大部分肠球菌对呋喃妥因敏感，已成功用于治疗尿路感染。肠球菌性心内膜炎、脑膜炎等常用青霉素或氨苄西林与氨基糖苷类药物联合治疗等。合理谨慎使用万古霉素，如耐万古霉素肠球菌感染时，实施隔离是防止细菌扩散的较有效方法。

第四节　奈瑟菌属

奈瑟菌属（*Neisseria*）的细菌是一群革兰阴性菌，多数为无芽胞和鞭毛，有荚膜和菌毛的双球菌。专性需氧，能产生氧化酶和触酶。根据奈瑟菌在培养基生长特点、对糖的氧化和还原硝酸盐等能力，可用于区别常见的奈瑟菌。奈瑟菌属中主要菌种的生物学性状见表7-8，其中只有脑膜炎奈瑟菌和淋病奈瑟菌对人致病，其余均为鼻、咽喉和口腔黏膜的正常菌群，仅在抵抗力下降时偶尔致病。

表7-8　常见奈瑟菌的主要生物学性状

特　性	淋病奈瑟菌	脑膜炎奈瑟菌	解乳奈瑟菌	干燥奈瑟菌	黏膜奈瑟菌	浅黄奈瑟菌
CHOC	0	0	V	+	+	+
ML琼脂	+	+	+	0	0	0
葡萄糖	+	+	+	+	+	0
麦芽糖	0	+	+	+	+	0
乳糖	0	0	+	0	0	0
蔗糖	0	0	0	+	+	0
硝酸盐还原	0	0	0	0	+	0

CHOC：巧克力琼脂（22℃）；ML：Martin-Lewis agar（35℃）；+：生长（培养基）或产酸（分解糖类）；0：不生长或不产酸；V：生长或不生长

一、淋病奈瑟菌

淋病奈瑟菌（*Neisseria gonorrhoeae*）简称淋球菌（gonococcus），是人类淋菌性尿道炎（淋病）的病原菌，淋病也是我国目前发病人数最多的性传播疾病。

（一）生物学性状

革兰阴性双球菌，直径为0.6～0.8μm，常成双排列。淋病奈瑟菌有荚膜，致病菌株有菌毛。专性需氧，巧克力色血琼脂平板是适宜培养基。35～36℃孵育48小时后，形成凸起、圆形、灰白色、

直径0.5～1.0mm的光滑型菌落。为提高淋病奈瑟菌检出率，可选用万古霉素、多黏菌素等选择性培养基来抑制其他杂菌生长。该菌抵抗力弱，对干燥、寒冷、热及常用消毒剂均敏感。

淋病奈瑟菌表层抗原至少可分为菌毛蛋白抗原、外膜蛋白抗原和脂寡糖抗原：

1. 菌毛蛋白　由菌毛蛋白组成菌毛（pili），介导对非纤毛化上皮细胞的黏附，具有抵抗中性粒细胞的杀菌作用。菌毛C端为高变区，通过变异或相变，逃逸对再感染的免疫力。菌毛有29个血清型，但菌毛易变异，故分型意义不大。

2. 外膜蛋白　有Por蛋白（porin proteins，PⅠ）、Opa蛋白（opacity proteins，PⅡ）和Rmp蛋白（reduction-modifiable proteins，PⅢ）。Por蛋白分PorA和PorB。PorA有18个亚型，PorB有28个亚型。介导细菌与敏感细胞的黏附，具有阻止吞噬溶酶体形成，有利细菌在细胞内生存。Opa蛋白能促进细菌牢固黏附于上皮细胞或介导细菌间黏附。缺乏Opa蛋白的菌株形成的菌落透明，有Opa蛋白的菌株形成的菌落则为不透明，透明性与菌株的毒力有关。Rmp蛋白保护其他表面抗原（Por蛋白，LOS）免于杀菌抗体作用。

3. 脂寡糖　由脂质A和核心寡糖组成脂寡糖（lipooligosaccharide，LOS）类似LPS，具有内毒素活性。

（二）致病性与免疫性

人是唯一的自然宿主，无症状携带者是主要储存宿主。通过性接触传播，肛交和口交可分别感染直肠和口咽部。根据不完全统计，淋病在大多数国家和地区的性传播疾病中占首位或第二位，在我国，目前淋病患者占全国性病人数的首位。除性交途径外，经手、毛巾、污染的衣裤及寝具等也可传播淋病，但机会较少。

淋病奈瑟菌通过菌毛黏附上皮细胞，侵入泌尿生殖系统，通过各种致病物质引起尿道和生殖道感染。在感染初期，仅影响男性前尿道，女性尿道和子宫颈。主要表现为排尿时刺痛，尿道口红肿发痒，有黏液或黏液脓性分泌物。有些女性仅表现为白带的增多而不予注意。如不及时治疗，引起慢性感染、不育症或宫外孕。母体患有淋菌性尿道炎或子宫颈炎时，婴儿出生时可患淋病奈瑟菌性结膜炎，有大量脓性分泌物，又称脓漏眼。淋病奈瑟菌致病物质见表7-9。

人类对淋病奈瑟菌无天然免疫力，病后保护性免疫力不强，不能防止再次感染。

表7-9　淋病奈瑟菌致病物质

毒力因子	生物学效应
菌毛蛋白	介导对非纤毛化上皮细胞（生殖道上皮细胞）的黏附；易变异，逃逸免疫监视
脂寡糖	由脂质A和核心寡糖组成，具有内毒素活性，引起局部炎症和全身反应
Por蛋白	介导菌与敏感细胞的黏附，阻止吞噬溶酶体形成，有利细菌在细胞内生存
Opa蛋白	促进细菌牢固黏附于上皮细胞或细菌间的黏附形成微菌落
Rmp蛋白	保护表面抗原（Por蛋白，LOS）免受杀菌抗体作用
IgA1蛋白酶	破坏黏膜表面IgA1，有利细菌对黏膜表面的黏附
铁蛋白受体	乳铁蛋白结合蛋白、转铁蛋白结合蛋白和血色素结合蛋白；结合蛋白为铁的受体，介导细菌获取铁

（三）微生物学检查

取泌尿生殖道脓性分泌物或子宫颈表面分泌物，涂片镜检，如在中性粒细胞内发现有革兰阴性双球菌时，有诊断价值（图7-3）。

对于慢性病患者，涂片镜检阴性者，可进行标本的分离培养，阳性进一步作生化反应等鉴定。本菌对低温和干燥极敏感，故标本采取后应注意保暖保湿，立即送检。标本接种在巧克力色血琼脂平板或Thayer-Martin 培养基（含盐酸万古霉素、多黏菌素E、甲氧苄啶和制霉菌素的巧克力色培养基），在37℃ 5%CO_2下孵育36～48小时，菌落涂片镜检为革兰阴性双球菌伴有氧化酶阳性菌落即

可诊断。另外应用免疫酶试验、直接免疫荧光法、PCR技术可直接检测标本中淋病奈瑟菌的抗原或核酸。

（四）防治原则

淋病是一种性传播疾病，大力开展性病知识宣传教育是预防淋病的重要环节。淋病主要经无症状患者，或虽有症状却被忽视或未去求医者所传播，所以对确诊淋病者，对其性伙伴的检查和治疗成为控制淋病传播的至关重要的环节。对患者要早发现，早用药，彻底治疗。淋病奈瑟菌对青霉素、磺胺类多种抗生素敏感，但易产生耐药性。目前普遍使用大观霉素，虽疗效好，但仍有耐药菌株的发现。女性感染淋病奈瑟菌后，有60%可呈现无症状感染，故婴儿出生时，不论母亲有无淋病，均可用1%硝酸银等药物滴眼，以预防新生儿淋菌性结膜炎。目前还无有效疫苗供使用。

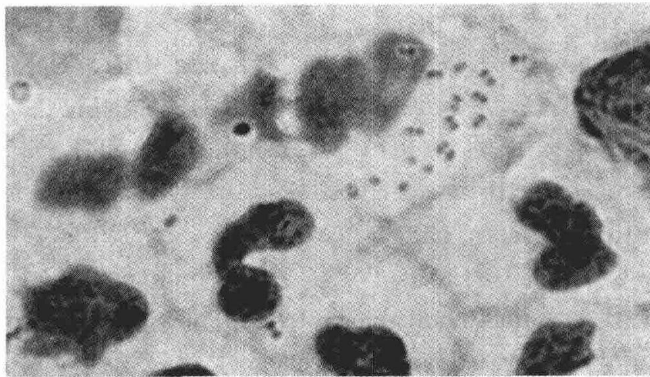


图7-3　生殖道感染淋病奈瑟菌的分泌物涂片

二、脑膜炎奈瑟菌

脑膜炎奈瑟菌（*Neisseria meningitidis*）俗称脑膜炎球菌（meningococcus），是流行性脑脊髓膜炎（流脑）的病原菌。

（一）生物学性状

肾形或豆形革兰阴性双球菌，两菌接触面平坦或略向内陷，直径0.6～0.8μm。排列呈单个、成双、或4个相连等。在患者脑脊液中，多数位于中性粒细胞内。新分离的菌株大多有荚膜和菌毛，营养要求高，需在含有血清、血液等培养基中方能生长。常用经80℃以上加热的血琼脂培养基，色似巧克力，故名巧克力色培养基。专性需氧，在含有5%～10% CO_2湿润环境中生长更佳。经24小时培养，形成1～1.5mm无色、圆形、凸起、光滑、透明、似露滴状的菌落。能在37℃产生自溶酶，在体外25℃碱性环境导致细菌快速的肿胀和溶解，如培养物不及时转种，超过48小时后常死亡。本菌抵抗力极弱，对干燥、热、寒冷均敏感，室温中3小时即死亡，常用消毒剂可迅速将其杀死。

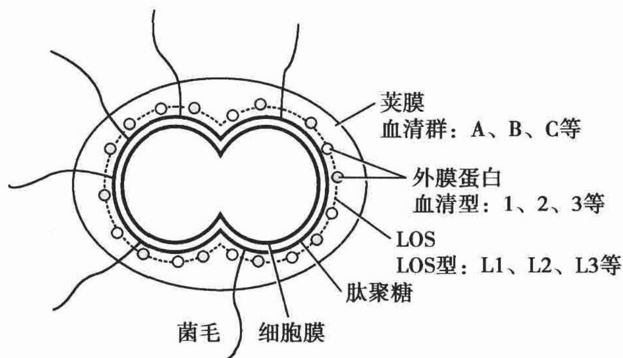


图7-4　脑膜炎奈瑟菌结构和分型模式图

脑膜炎奈瑟菌的结构与分型见图7-4。根据脑膜炎奈瑟菌荚膜多糖群特异性抗原的不同，目前可分为A、B、C、D、H、I、K、L、X、Y、Z、29E和W135共13个血清群，对人类致病的多属A、B、C群。近十年来，西半球主要流行菌株为B、C、W135和Y群，非洲主要是A群，我国95%以上病例为A群，近年来亦发现B群和C群。

脑膜炎奈瑟菌按其外膜蛋白的分子量归为五类。P1类外膜蛋白的相对分子质量在$41 \sim 46 \times 10^3$之间，P2为$38 \sim 41 \times 10^3$，P3为$36 \sim 38 \times 10^3$，P4为$34 \sim 36 \times 10^3$，P5为$28 \sim 32 \times 10^3$。所有菌株均有P1、P2或P3类外膜蛋白，这三类蛋白类似淋病奈瑟菌的Por蛋白，具有血清型特异性，目前有20个血清型已被确定，其中2型、15型与脑膜炎流行有关。P5类外膜蛋白类似淋病奈瑟菌的Opa蛋白。

除外膜蛋白外，外膜上有糖脂组成的LOS，脑膜炎奈瑟菌是主要致病物质。LOS具有抗原性，也可进行免疫学分型，可分为L1～L12型。我国对A群予以分型，可分为L9、L10和L11三个血清型，但我国主要由A群L10型引起流脑流行。外膜和细胞膜之间是肽聚糖。

脑膜炎奈瑟菌有菌毛，但与淋病奈瑟菌不同，不用于血清学分型。菌毛介导细菌与上皮细胞的黏附。

（二）致病性与免疫性

人是唯一的自然宿主，鼻咽部无症状携带者为1%～40%。通过飞沫传播。5岁以下儿童和老人为易感者；补体C5，6，7，8缺损者易感性比非缺损者高6000倍。脑膜炎以A群感染为主，也有B，C群感染。流脑常呈周期性大流行，平均十年左右有一次流行高峰，主要由于相隔一定时间后人群的免疫力下降，新的易感者增多所致，但疫苗可控制和改变周期性规律。我国从1994年开始的第四次流行，就因注射A群多糖疫苗而被控制。

脑膜炎奈瑟菌首先侵入人体的鼻咽部，若免疫力强，细菌被消灭；若免疫力较弱，细菌则侵入血液引起败血症。极少数患者，细菌经血侵入脑脊膜，产生化脓性炎症。脑膜炎的主要临床表现为发病突然，伴有严重的头痛，呕吐，颈项强直等脑膜刺激症。细菌引起小血管栓塞，使皮肤出现瘀斑。

致病物质有荚膜、菌毛、IgA1蛋白酶和LOS。荚膜可抵抗吞噬，使细菌在机体内大量繁殖。菌毛介导细菌黏附于鼻咽部黏膜上皮细胞，利于对人体侵入。脑膜炎球菌能产生IgA1蛋白酶，破坏SIgA1，帮助细菌黏附于黏膜。LOS是脑膜炎球菌最主要的致病物质，病菌侵入机体繁殖后，因自溶或死亡而释放的LOS，作用于小血管或毛细血管，引起血管坏死性出血，皮肤出现瘀斑。严重败血症患者，可引起肾上腺出血，并因大量LOS的释放造成中毒性休克和弥散性血管内凝血。

机体对脑膜炎奈瑟菌的免疫主要是体液免疫。在感染两周后，血清中群特异性的IgA、IgG、IgM抗体水平明显上升，抗体的免疫作用主要表现在：抗体在补体的存在下溶解脑膜炎球菌；抗体和补体的免疫调理作用增强吞噬细胞对脑膜炎球菌的吞噬；SIgA可以阻止脑膜炎奈瑟菌对上呼吸道黏膜细胞的侵袭。

（三）微生物学检查

采取患者的脑脊液、血液或刺破出血瘀斑取其渗出液，直接涂片镜检，如在中性粒细胞内、外有革兰阴性双球菌，可作出初步诊断。因本菌对低温和干燥极敏感，故在分离培养时，标本采取后应注意保暖保湿，立即送检，接种于预温的培养基内，最好是床边接种。培养阳性者，应进行生化反应和血清凝集试验鉴定。脑膜炎球菌易自溶，将多糖抗原释放至血液或脑脊液，故可用对流免疫电泳、SPA协同凝集试验、ELASA等方法对患者脑脊液和血清中可溶性抗原进行快速检测。

（四）防治原则

要早期隔离治疗患者，控制传染源。治疗首选青霉素和磺胺药，因此类药物能通过血-脑脊液屏障。对儿童应注射A和C群二价或A、C、Y W135群四价混合脑膜炎多糖疫苗进行特异性预防，保护率在90%以上。

展 望

万古霉素是治疗耐青霉素葡萄球菌感染的有效药物，但自1997年开始，出现耐万古霉素的菌株。目前，至少有8个国家发现耐绝大多数抗生素的金黄色葡萄球菌，包括美国、日本、中国和某些欧洲国家，并在欧美造成一些感染者的死亡。虽耐药机制并非十分清楚，但已证明细胞壁合成改变可影响万古霉素与其结合，从而有效阻止万古霉素破坏肽聚糖的合成。研究发现，某些肠球菌对万古霉素具有固有耐药。已有实验表明，可用人工方法将肠球菌耐万古霉素基因转入葡萄球菌，如在自然界发生类似现象，将会出现难以控制的葡萄球菌感染。目前正在寻找快速敏感方法，检测耐药性细菌。随着细菌基因组的深入研究和分子生物学技术的发展，检测耐药基因指导临床用药已成为可能。

葡萄球菌肠毒素、链球菌致热外毒素和毒性休克综合征毒素均具有超抗原的生物学活性。超抗原能激活T细胞产生过量淋巴因子，参与某些自身免疫性疾病的发生。有报道认为，葡萄球菌肠毒

素引起的恶心、呕吐、腹泻等胃肠道表现，主要与肥大细胞释放组胺和白三烯有关。葡萄球菌肠毒素也与生物武器相关,常以气雾剂的方式,通过吸入引起广泛的多器官损伤,严重者发生休克和死亡。

淋病奈瑟菌感染是以实验室诊断为基础，只有检出淋病奈瑟菌才能报告淋病奈瑟菌感染。灰色奈瑟菌与反硝酸化金氏菌等相关细菌可误诊为淋病奈瑟菌，造成鉴定困难。美国CDC提出淋病奈瑟菌感染的诊断标准，主要依据临床表现和实验室试验分三类：

1. 提示性诊断　体检时发现宫颈内或男性尿道有黏性脓性分泌物，或与淋病患者有过性接触。

2. 初步诊断　符合下列两个标准，即可作为淋病奈瑟菌感染的初步诊断。①尿道或宫颈内分泌物涂片检查发现典型的细胞内革兰阴性双球菌；②分泌物培养有菌生长，并具有典型的菌落形态、氧化酶试验阳性和革兰染色为典型的革兰阴性双球菌；③非培养性试验包括标本的抗原检查、核酸杂交或核酸扩增试验检出淋病奈瑟菌抗原或核酸。

3. 确诊性诊断　①尿道、宫颈、咽喉和直肠等接触部位分离出淋病奈瑟菌，并具有典型的菌落形态、氧化酶试验阳性和革兰染色为典型的革兰阴性双球菌；②应用酶快速测定和碳水化合物利用等生化反应、协同凝集和荧光抗体试验等血清学反应、或核酸杂交等分子生物学技术，对培养细菌作确诊性鉴定。

（钱利生）

第八章 肠杆菌科

肠杆菌科（*Enterobacteriaceae*）包括了一大群生物学性状近似的革兰阴性杆菌，常寄居在人和动物的肠道内，亦存在于土壤、水和腐物中。它们属于兼性厌氧菌或需氧菌，能发酵多种糖，具有复杂的抗原结构（菌体抗原、鞭毛抗原以及荚膜抗原等），能产生各种毒素以及其他毒性物质。

肠杆菌科细菌种类繁多。根据生化反应、抗原结构、核酸杂交和序列分析，目前已有44个菌属，170多个种已确定。尽管种属复杂，但引起人类95%以上感染的菌种却不到25个（表8-1）。

表8-1　常见的引起人类感染的肠杆菌科细菌

属	种
枸橼酸杆菌属	弗劳地枸橼酸杆菌、柯塞枸橼酸杆菌
肠杆菌属	产气肠杆菌、阴沟肠杆菌
埃希菌属	大肠埃希菌
克雷伯菌属	肺炎克雷伯菌肺炎亚种、催娩克雷伯菌
摩根菌属	摩根菌摩根亚种
变形杆菌属	奇异变形杆菌、普通变形杆菌
沙门菌属	肠道沙门菌肠道亚种
沙雷菌属	黏质沙雷菌黏质亚种
志贺菌属	宋内志贺菌、福氏志贺菌、痢疾志贺菌、鲍氏志贺菌
耶尔森菌属	鼠疫耶尔森菌、小肠结肠炎耶尔森菌、小肠结肠炎亚种、假结核耶尔森菌、假结核亚种

按照细菌的致病性，可将肠杆菌科细菌分为内源性的正常菌群与外源性的病原菌。大多数肠杆菌科细菌是肠道的正常菌群，但当宿主免疫力降低或细菌移位至肠外部位如泌尿生殖道、胆道、腹腔甚或进入血流时可成为条件致病菌而引起内源性感染；少数为肠道病原菌，例如伤寒沙门菌、志贺菌、致病性大肠埃希菌等，一旦侵入机体，将分别引起沙门菌病、志贺菌病以及腹泻等特有的外源性感染。

The Enterobacteriaceae are a large，heterogeneous group of G-rods and its natural habitat is intestinal tract of humans and animals，and soil，water as well saprophytes. The Enterobacteriaceae are facultative anaerobes or aerobes，ferment a wide range of carbohydrates，possess complex antigenic structure（O Ag，H Ag and K Ag or Vi Ag），and produce a variety of toxins（endotoxin and/or exotoxin）and other virulence factors.

The family includes many categories. According their biochemical reactions，antigenic structures，nucleic acid hybridization and sequencing there are at least 44 genera and more than 170 species in Enterobacteriaceae. The total 25 species in 10 genera including Escherichia，Shigella，Salmonella，Klebsiella，Proteus，Morganella，Citrobacter，Enterobacter，Serratia，and Yersinia are more important medically than others seen（Table 8-1）.

According to their pathogenic properties, most bacteria of the Enterobacteriaceae such as *E. coli, Klebsiella, Citrobacter, Proteus, Morganella, Enterobacter, and Serratia* are part of the normal flora but incidentally cause endogenous or opportunistic infections as opportunistic pathogens in the immunocompromised individual if move to a extra enteric habitats such as urinogenital tract, biliary tract, peritoneal cavity, even blood stream, while others, e.g.the *Salmonellae, Shigellae* and pathogenic *E. coli* ($O_{157}H_7$), are pathogenic for humans, resulting in distinct, exogenous infections, the salmonellosis, the shigellosis and diarrhea, respectively.

Table 8-1 Pathogenic Species of Enterobacteriaceae

Genera	Species
Citrobacter	*C.freundii, C.koseri*
Entrobacter	*E.aerogenes, C.cloacae*
Escherichia	*E. coli*
Klebsiella	*K.pneumoniae subsp. pneumoniae, K.oxytoca*
Morganella	*M.morganii subsp. morganii*
Proteus	*P.mirabilis, P.vulgaris*
Salmonella	*S.enterica subsp. enterica*
Serratia	*S.marcescens subsp marcescens*
Shigella	*S.sonnei, S.flexneri, S.dysenteriae, S.boydii*
Yersinia	*Y.pestis, Y.enterocolitica subsp enterocolitica, Y.pseudotuberculosis subsp pseudotuberculosis*

肠杆菌科的细菌具有下述共同生物学特性：

形态与结构　宽0.3～1.0μm，长1～6μm，中等大小的革兰阴性杆菌。无芽胞，多数为周毛菌，少数有荚膜或包膜，大多有菌毛。

培养　兼性厌氧或需氧。营养要求不高，在普通琼脂平板上生长繁殖后形成湿润、光滑、灰白色的直径2～3mm中等大小菌落。在血琼脂平板上，有些菌可产生溶血圈。在液体培养基中，呈均匀浑浊生长。

生化反应　活泼，分解多种糖类和蛋白质，形成不同代谢产物，常用以区别不同菌属和菌种。乳糖发酵试验在初步鉴别肠杆菌科中致病菌和非致病菌上有重要价值，一般非致病菌能分解乳糖，而致病菌多数不能。

抗原结构　复杂，主要有菌体O抗原、鞭毛H抗原和荚膜K抗原。其他尚有菌毛抗原。

（1）O抗原：存在于细胞壁脂多糖（LPS）的最外层，具有属、种特异性。其特异性取决于LPS分子末端重复结构多糖链的糖残基种类的排列，脂多糖的核心多糖为肠杆菌科细菌的共同抗原。O抗原耐热，100℃不被破坏。从患者新分离菌株的菌落大多呈光滑（S）型，在人工培养基上多次传代移种保存日久后，LPS失去外层O特异性侧链，此时菌落变成粗糙（R）型，是为S-R型变异。R型菌株的毒力显著低于S型株。

（2）H抗原：存在于鞭毛蛋白。不耐热，60℃ 30分钟即被破坏。H抗原的特异性决定于多肽链上氨基酸的排列序列和空间结构。细菌失去鞭毛后，运动随之消失；同时O抗原外露，为H-O变异。

（3）荚膜抗原：多糖，位于O抗原外围，能阻止O凝集现象，经60℃ 30分钟可被破坏。重要的有伤寒沙门菌的Vi抗原，大肠埃希菌的K抗原等。

细菌素（大肠杆菌素）：许多革兰阴性细菌产生细菌素受质粒控制。例如，大肠埃希菌产生的细菌素称大肠杆菌素，沙门菌产生黏质沙雷菌素。产细菌素的菌株本身对所产生的细菌素具有耐性。

毒素与酶　由于绝大多数革兰阴性细菌含有复杂的LPS，故具有多种病理作用。有关细菌毒素的致病作用将在相关章节中讨论。

抵抗力　对理化因素抵抗力不强，60℃ 30分钟即死亡。常用氯进行饮水消毒。胆盐、煌绿等染料对非致病性肠杆菌科细菌有抑制作用，藉以制备选择培养基来分离有关病原菌。

变异　肠杆菌科细菌易变异，除自发突变外，更因相互处于同一密切接触的肠道微环境，还可以经噬菌体、质粒、转座子和毒力岛的介导，通过转导、接合、溶原性转换等基因的转移和重组方式，使受体菌获得新的性状而导致变异。其中最常见的是耐药性变异。

第一节　埃希菌属

埃希菌属（*Escherichia*）有6个种，只有大肠埃希菌（*E. coli*）是临床最常见、最重要的一个菌种，俗称大肠杆菌，婴儿出生后数小时就进入肠道，并终生伴随。大肠埃希菌是肠道中重要的正常菌群，并能为宿主提供一些具有营养作用的合成代谢产物；在宿主免疫力下降或细菌侵入肠道外组织器官后，如尿路、胆道、腹腔以及少数情况下亦可侵入血流（菌血症）、前列腺、肺、骨、脑膜等处，即可成为机会致病菌，引起肠道外感染，故大肠埃希菌也是肠道杆菌中最重要的一种条件致病菌；有一些血清型的大肠埃希菌具有致病性，能导致人类胃肠炎；大肠埃希菌在环境卫生和食品卫生学中，常用作被粪便污染的检测指标；在分子生物学和基因工程研究中，大肠埃希菌是重要的实验材料。

一、生物学性状

大小为宽0.4～0.7μm，长1～3μm，革兰阴性，多数菌株有周身鞭毛，能运动。有菌毛，包括普通菌毛和性菌毛，有些菌株还有致病性菌毛。肠外感染菌株常有多糖包膜（微荚膜）（图8-1、图8-2）。

兼性厌氧，营养要求不高，在普通琼脂平板培养37℃ 24小时后，形成直径2～3mm的圆形凸起灰白色S型菌落。但在人和动物肠道中繁殖速度要慢得多，成倍增长的时间为一天。在肥沃的土壤表层可存活数月。有些菌株在血琼脂平板上呈β溶血。在液体培养基中呈均匀浑浊生长。其生长温度范围广（15～45℃）。有些菌株对热的抗性较强，在60℃ 15分钟或55℃ 60分钟仍可存活。

能发酵葡萄糖等多种糖类，产酸并产气。发酵乳糖，可同沙门菌、志贺菌等区别。吲哚、甲基红、VP、枸橼酸盐（IMViC）试验结果为"++−−"。凡IMViC试验为此结果的，判为典型的大肠埃希菌，表明被检物已有粪便污染，有传播肠道传染病的危险。

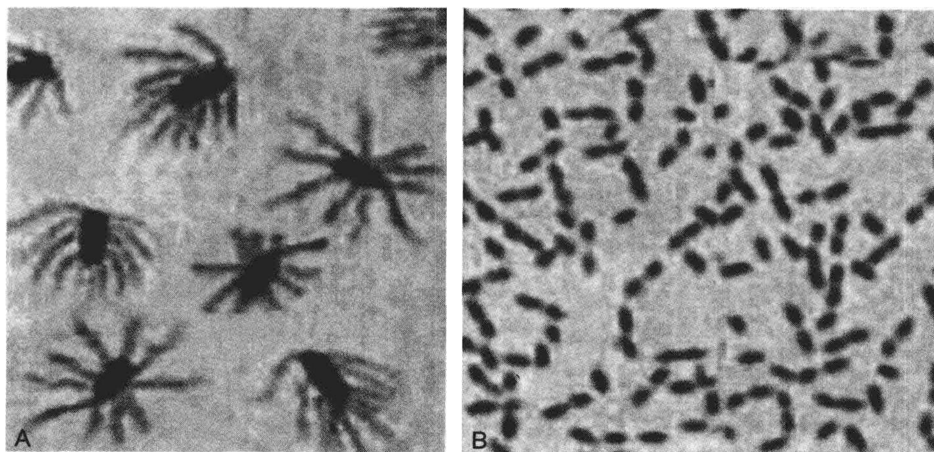


图8-1　大肠埃希菌

A. 大肠埃希菌（鞭毛染色）；B. 大肠埃希菌（革兰染色×1000）

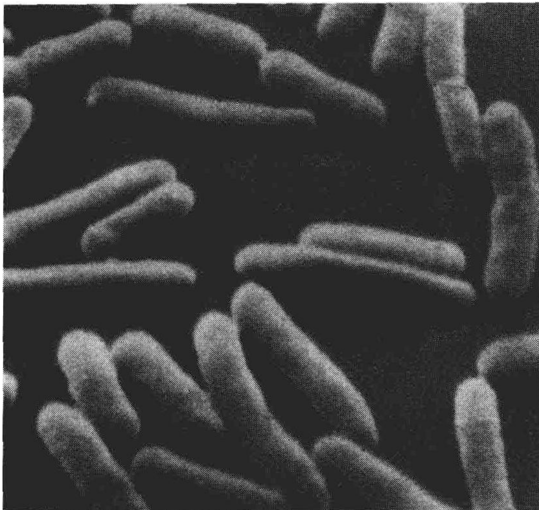


图8-2 大肠埃希菌（扫描电镜 ×10000）

大肠埃希菌抗原主要有O、H和K三种，是血清学分型的基础。O抗原超过170种。检测O抗原时，凝集试验必须采用加热煮沸过的菌体，以避免因K抗原的存在而造成的不凝集现象。大肠埃希菌之间、大肠埃希菌与枸橼酸杆菌属、沙门菌属、志贺菌属和耶尔森菌属中的细菌在O抗原上存在很多交叉反应。H抗原超过56种，与其他肠道菌基本无交叉反应。检测H抗原必须采用半固体培养基。K抗原在100种以上，多糖性质。K抗原过去分为L、A、B三型。现在，K抗原指酸性的多糖荚膜抗原。大肠埃希菌K抗原可为两组（组1和组2）。大肠埃希菌血清型的表示方式是按O：K：H排列，例如O111：K58（B4）：H2。

大肠埃希菌能产生大肠菌素（colicin），能产生菌素的菌株对自身菌素有抗性，可用于大肠埃希菌的分型。

二、致病性与免疫性

（一）致病物质

1. 黏附素（adhesin） 大肠埃希菌的黏附素为重要的致病菌毛，能使细菌紧密黏着在泌尿道和肠道的细胞上，避免因排尿时尿液的冲刷和肠道的蠕动作用而被排除，特点是特异性高。根据结构蛋白氨基酸序列，划分为不同的家族。包括定植因子抗原Ⅰ，Ⅱ，Ⅲ（colonization factor antigen，CFA/Ⅰ，CFA/Ⅱ，CFA/Ⅲ）；集聚黏附菌毛Ⅰ和Ⅲ（aggregative adherence fimbriae，AAF/Ⅰ，AAF/Ⅲ）；束形成菌毛（bundle forming pili，Bfp）；紧密黏附素（intimin）；P菌毛（Pyelonephritis pili）因能与P血型抗原结合而命名；Dr菌毛（能与Dr血型抗原结合）；Ⅰ型菌毛（其受体含有D-甘露糖）和侵袭质粒抗原（invasion plasmid antigen，Ipa）蛋白等。体外实验证明，菌毛与黏附的分子机制因菌株不同而各异。如果在培养中加入D-甘露糖，黏附就会被抑制。

2. 外毒素 大肠埃希菌能产生多种类型的外毒素。它们是志贺毒素Ⅰ和Ⅱ（Shiga toxins，Stx-1，Stx-2）；耐热肠毒素a和b（heat stable enterotoxin，STa，STb）；不耐热肠毒素Ⅰ和Ⅱ（heat labile enterotoxin，LT-Ⅰ，LT-Ⅱ）；溶血素A（hemolysin，HlyA）等。后者在尿路致病性大肠埃希菌（uropathogenic *E. coli*，UPEC）致病中起重要作用。

此外，还有内毒素，荚膜、载铁蛋白和Ⅲ型分泌系统（type Ⅲ secretion systems）等，内毒素、荚膜的致病作用已作过介绍；载铁蛋白可从宿主获取铁离子，是一种公认的致病机制。所谓Ⅲ型分泌系统犹如分子注射器，是指细菌接触宿主细胞后，能向宿主细胞内输送毒性基因产物的细菌效应系统，约由20余种蛋白组成。

（二）所致疾病

1. 肠道外感染 包括泌尿生殖道、胆道、腹腔以及血流中。其中，大肠埃希菌是尿路感染最常见的病原，年轻女性首次尿路感染有90%是大肠埃希菌引起的。其症状与体征包括尿频、排尿困难、血尿及脓尿，双侧腹痛与上尿道感染有关。这些症状或体征均不具特征性，临床上，尿路感染可导致菌血症及败血症。引起肾盂感染的大肠埃希菌可产生一种溶血素。绝大多数大肠埃希菌感染是由几种特殊的血清型所致。在引起的上行泌尿道感染中，K抗原具有重要致病作用。具有的P菌毛（Pyelonephritis pili）的大肠埃希菌更具黏附力（毒力因素之一）。

2. 腹泻 某些血清型可引起人类腹泻。将这些致腹泻的大肠埃希菌称肠道致病性大肠埃希菌或致病性大肠埃希菌。根据其致病机制不同，主要有5种类型（表8-2）。

表8-2 引起腹泻的大肠埃希菌

菌株	作用部位	疾病与症状	发病机制	菌 株
ETEC	小肠	旅游者腹泻；婴幼儿腹泻；水样便，恶心，呕吐，腹痛，低热	质粒介导LT和（或）ST肠毒素，大量分泌体液和电解质	6、8、15、25、27、78、148、159
EIEC	大肠	水样便，继以少量血便，腹痛，发热	质粒介导侵袭和破坏结肠黏膜上皮细胞	28ac、29、112ac、124、136、143、144、152、164、167
EPEC	小肠	婴儿腹泻；水样便，恶心，呕吐，发热	质粒介导黏附和破坏上皮细胞	2、55、86、111、114、119、125、126、127、128、142、158
EHEC	大肠	水样便，继以大量出血，剧烈腹痛，低热或无，可并发HUS、血小板减少性紫癜	溶原性噬菌体编码Stx-Ⅰ或Stx-Ⅱ，中断蛋白质合成	157、26、111
EAEC	小肠	婴儿腹泻；持续性水样便，呕吐，脱水，低热	质粒介导集聚性黏附上皮细胞，阻止液体吸收	42、44、3、86等

肠产毒型大肠埃希菌（enterotoxigenic *E. coli*，ETEC）是5岁以下婴幼儿和旅游者腹泻的重要病原菌。污染的水源在疾病传播中有重要作用。临床症状可以从轻度腹泻至严重的霍乱样腹泻。致病物质主要是肠毒素和定植因子，后者可使细菌黏附到小肠上皮细胞上。

ETEC的肠毒素有不耐热和耐热肠毒素两种，均由质粒介导。不耐热肠毒素（heat labile enterotoxin，LT）与霍乱弧菌产生的肠毒素密切相关，对热不稳定，65℃ 30分钟可被破坏。LT由1个A亚单位和5个B亚单位组成。A亚单位是毒素的活性部位。B亚单位与肠黏膜上皮细胞表面的GM1神经节苷脂结合后，使A亚单位穿越细胞膜与腺苷环化酶作用，令胞内ATP转化为cAMP。胞质内cAMP水平增高后，导致肠黏膜细胞内水、钠、氯、碳酸氢钾等过度分泌至肠腔，导致腹泻。LT一般不引起肠黏膜的炎症或组织病变。LT与霍乱肠毒素两者间的氨基酸组成同源性达75%左右；它们的抗原性高度交叉；两者B亚单位的肠黏膜结合受体都是同一个GM1神经节苷脂。

ETEC的耐热肠毒素（heat stable enterotoxin，ST）为低分子量多肽，对热稳定，100℃加热20分钟仍不失活。免疫原性差。ST的作用机制与LT的不同，其引起腹泻是通过激活肠黏膜细胞上的鸟苷环化酶，使胞内cGMP量增多而导致腹泻。ST活性发挥迅速，而LT的作用较滞后。

菌毛是ETEC致病的另一重要因素。能形成肠毒素而无菌毛的菌株，不会引起腹泻。ETEC菌毛的黏附作用具有高度专一性，并将这类黏附素（adhesin）常称之为定植因子抗原（colonization factor antigen，CFA）。大肠埃希菌第一个被认识的定植因子是猪大肠埃希菌的表面抗原K88，菌毛性质由转移性质粒控制。K88在小猪肠炎中具有重要的致病作用，实验表明大肠埃希菌O141失去K88质粒，其引起的小猪腹泻的能力即随之消失；倘若从其他大肠埃希菌重新导入K88质粒，则毒力又重新恢复。猪有一基因编码小肠上皮细胞的K88受体，失去该受体，带有K88抗原的大肠埃希菌则不能在小肠上定植。定植因子除K88还有987P、F41、F107等；K99是猪、羊、牛ETEC所共有。定植因子具有很强的抗原性，能刺激宿主产生特异性抗体。在兽医界已制成口饲菌毛疫苗，在猪群中人工免疫后，可抵抗猪ETEC的侵袭。

与ETEC致病有关的物质还有LPS，以及具有抗吞噬作用的K抗原等。

肠侵袭型大肠埃希菌（enteroinvasive *E. coli*，EIEC）较少见，主要侵犯较大儿童和成人。所致疾病很像菌痢，腹泻呈脓血便，有里急后重，故曾称志贺样大肠埃希菌（shigelloid E. coli）。EIEC不产生肠毒素，能侵袭结肠黏膜上皮细胞并在其中生长繁殖。细菌经消化道进入大肠后，穿过黏液层，黏附到肠上皮细胞，引起细胞内吞，被带入细胞空泡中。其毒力主要表现在能使空泡破坏，细菌进入上皮细胞的胞质中增殖，最后杀死细胞，再扩散到邻近细胞，导致组织破坏和随后的炎症发

生。EIEC的侵袭与一种大质粒（$120 \sim 140 \times 10^6$）有关，其携带有编码与侵袭有关的外膜蛋白的基因，以及这些蛋白插入细胞膜所必需的基因。质粒基因还与细菌从胞质空泡中逃逸及侵入邻近宿主细胞有关。带有该质粒的菌株可引起豚鼠角膜Sereny试验阳性，并可侵袭HeLa细胞。对EIEC的大质粒与志贺菌编码侵袭性基因的大质粒高度同源，用侵袭性基因的探针，EIEC和志贺菌中的有毒株均能发生特异性反应。

EIEC无动力、生化反应和抗原结构也近似志贺菌。因此，若不注意，容易误诊为志贺菌。

肠致病型大肠埃希菌（enteropathogenic *E. coli*，EPEC）是在流行病学研究中最早发现的引起腹泻的大肠埃希菌。是婴幼儿腹泻的主要病原菌，严重者可致死，特别在热带国家。在医院中常引起暴发流行，但在发达国家已不常见。该菌成人感染少见。EPEC不产生肠毒素及其他外毒素，无侵袭力。病菌在十二指肠、空肠和回肠上段黏膜表面大量繁殖，黏附于微绒毛，导致刷状缘被破坏、微绒毛萎缩、上皮细胞排列紊乱和功能受损，造成严重腹泻。

EPEC对细胞的黏附有两种类型。局限性黏附指病菌呈块状黏附在肠黏膜细胞表面的某一部分，弥散性黏附是病菌主要以单个分散黏附在细胞表面。由于两者在生物学特征、致病特点等方面存在较大差异，有学者建议称弥散黏附的EPEC为EPEC Ⅱ型或弥散黏附型大肠埃希菌（diffusely adherent E. coli，DAEC）。

肠出血型大肠埃希菌（enterohemorrhagic *E. coli*，EHEC）亦称为Vero毒素大肠埃希菌（vero toxigenic E. coli，VTEC）。为出血性结肠炎和溶血性尿毒综合征的病原体。1982年首先在美国发现，其血清型为O157∶H7。以后世界各地有散发或地方小流行，1996年日本大阪地区发生流行。患者逾万，死亡11人。5岁以下儿童易感染，感染菌量可低于100个。症状轻重不一，可为轻度水泻至伴剧烈腹痛的血便。约10% < 10岁患儿可并发有急性肾衰竭、血小板减少、溶血性贫血的溶血性尿毒综合征（hemolytic uremic syndrome，HUS），死亡率达10%左右。污染食品是EHEC感染的重要传染源，牛可能是O157∶H7的主要宿主。

EHEC的致病因子主要有菌毛和毒素。病菌进入消化道后，由紧密黏附素（intimin）介导与宿主末端回肠、盲肠和结肠上皮细胞结合，然后释放毒素，引起血性腹泻。该毒素能使Vero细胞产生病变，故称Vero毒素（VT）；又因与志贺菌的毒素在生物学特性、物理学特性和抗原性等方面相似，亦称志贺样毒素（shiga-like toxin，SLT）；实则Vero毒素和SLT之间仅一个氨基酸不同，有学者认为EHEC的Vero毒素即志贺毒素（shiga toxin，ST）。

能产生VT的大肠埃希菌血清型至少有160种，可从人、动物（特别是牛和猪中）和食物中分离得到，另发现非大肠埃希菌中亦有产VT的菌株，如枸橼酸杆菌属中的某些种。产VT的大肠埃希菌血清型以O157∶H7为主，但不同国家的流行株不一定相同。例如美国、日本为O157∶H7；意大利为O111∶H11；澳大利亚为O111∶H－；德国为弗劳地枸橼酸杆菌（Citrobacter freundii）等。

肠集聚型大肠埃希菌（enteroaggregative *E. coli*，EAEC）引起婴儿持续性腹泻，脱水，偶有血便。不侵袭细胞。可产生毒素和黏附素。毒素为肠集聚耐热毒素（enteroaggregative heat-stable toxin，EAST），抗原上与ETEC的ST有关。可导致大量液体分泌。另一毒素似大肠埃希菌的α溶血素。有4种不同形态的菌毛。细菌通过菌毛黏附于肠黏膜上皮细胞，在细胞表面聚集，形成砖状排列，并产生毒素。

三、微生物学检查法

临床标本的检查：

标本　肠外感染采取中段尿、血液、脓液、脑脊液等；腹泻则取粪便。

分离培养与鉴定：

1. 肠外感染

（1）涂片染色检查：除血液标本外，均需作涂片染色检查。脓、痰、分泌物可直接涂片，革兰

染色后镜检。尿液和其他液体先低速离心，再取沉淀物作涂片。

（2）分离培养：血液接种肉汤增菌，待生长后再移种至血琼脂平板。体液标本的离心沉淀物和其他标本直接画线分离于血琼脂平板。35～37℃孵育18～24小时后观察菌落形态。

（3）鉴定：初步鉴定根据IMViC（++−−）试验，最后鉴定根据系列生化反应。尿路感染尚需计数菌落量，每毫升≥10万cfu才有诊断价值。

2. 肠内感染　将粪便标本接种于鉴别培养基。挑选可疑菌落并鉴定为大肠埃希菌后，再分别检测不同类型致腹泻大肠埃希菌的肠毒素、毒力因子和血清型等特征。

（1）ETEC：过去用动物或细胞培养测定LT或ST，较为复杂；现可用ELISA法或基因探针检测这些肠毒素。

（2）EIEC：与志贺菌相似，多数EIEC无动力。乳糖不发酵或迟缓发酵。毒力试验可将被检菌液接种于豚鼠眼结膜囊内，可产生典型的角膜结膜炎症状。并在角膜上皮细胞内有大量细菌生长，为Sereny试验阳性。毒力试验亦可在组织培养中进行。

（3）EPEC：用特异O、H抗血清测定特异血清型，亦可以ELISA、细胞培养法和DNA技术检测。

（4）EHEC：O157∶H7血清型多数对山梨醇不发酵或缓慢发酵。VT毒素可用ElISA法测定。灵敏度达60 pg/ml，亦可用PCR法结合基因探针检测VT基因。

（5）EAEC：用液体培养-集聚试验（liquid-culture clump aggregation）检测受检菌的黏附性，或用探针技术测定EAST基因。

卫生细菌学检查

寄居于肠道中的大肠埃希菌不断随粪便排除，可污染周围环境、水源、饮料及食品等。样品中检出此菌愈多，表示被粪便污染愈严重，也间接表明可能有肠道致病菌污染。因此，卫生细菌学以“大肠菌群指数”作为饮水、食品等粪便污染的指标之一。

大肠菌群指数是指每升样品中的大肠菌群数。大肠菌群系指在37℃ 24小时内发酵乳糖产酸产气的肠道杆菌，包括埃希菌属、枸橼酸杆菌属、克雷伯菌属及肠杆菌属等。我国卫生标准规定，大肠菌群在每升饮水中不得超过3个；每100ml瓶装汽水、果汁中不得超过5个。细菌总数是指每毫升或每克样品中所含细菌数。将样品稀释后倾注培养，计菌落数，算出每毫升细菌总数。卫生部标准是饮用水、饮料中细菌总数＜100cfu/ml。

四、防治原则

在ETEC的免疫预防研究中，发现其菌毛抗原在自然感染和人工主动免疫中是关键抗原之一。在家畜中，用菌毛疫苗防治新生畜崽腹泻已获得成功。例如在孕牛产前6个月接种大肠埃希菌K99株的菌毛抗原，则新生牛犊吮乳后可被动获得特异菌毛抗体而受到同型菌毛型大肠埃希菌感染的免疫保护。研究还发现，EHEC和EPEC的致病机制中均有一个细菌与肠上皮细胞紧密黏附的过程，此过程由紧密黏附素介导。因此应用基因工程技术将其在体外表达，构建一种全新的，可同时预防EHEC和EPEC感染的，具有较高安全性的口服疫苗即将问世。

现已明确，有的牛群肠道中可以存在EHEC。因此，加热不彻底而被牛粪污染的牛肉、牛奶，以及果汁等都可能患出血性结肠炎。例如美国多次EHEC流行，传染源是汉堡包中污染EHEC的牛肉馅。

第二节　志 贺 菌 属

志贺菌属（Shigella）是人类细菌性痢疾最为常见的病原菌，通称痢疾杆菌（dysentery bacterium）。细菌性痢疾是发展中国家常见病之一。根据2006年我国卫生部公布的法定报告传染病和死亡数排序，痢疾发病总数在前五位，死亡在前十位。

一、生物学性状

大小为宽0.5～0.7μm，长2～3μm革兰阴性的短小杆菌。无芽胞，无鞭毛，无荚膜，有菌毛（图8-3）。

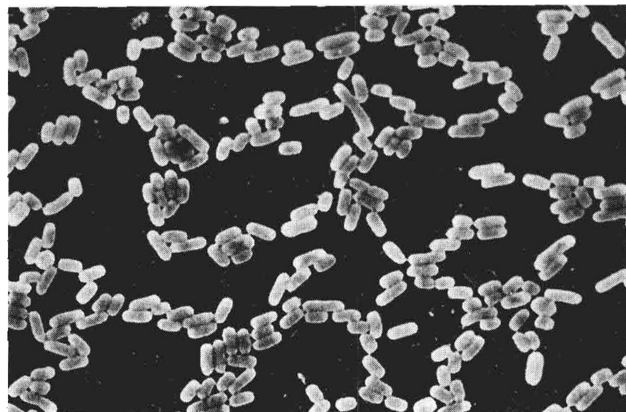


图8-3 福氏志贺菌（扫描电镜×2400）
（谢念铭提供）

营养要求不高，在普通琼脂平板上生长形成中等大小、半透明的光滑型菌落。志贺菌属中的宋内菌常出现扁平的粗糙型菌落。

分解葡萄糖，产酸不产气。除宋内志贺菌个别菌株迟缓发酵乳糖（一般需3～4天）外，均不分解乳糖。故在S-S等选释培养基上，呈无色半透明菌落。在克氏双糖管中，斜面不发酵，底层产酸不产气，硫化氢阴性，动力阴性，可同沙门菌、大肠埃希菌等区别。

志贺菌属有O和K两种抗原。O抗原是分类的依据，分群特异抗原和型特异抗原，藉以将志贺菌属分为4群（种），40余个血清型（包括亚型）（表8-3）。K抗原在分类上无意义，但可阻止O抗原与O抗体的结合。

表8-3 志贺菌属的分类

菌种	群型	亚型	甘露醇	乌氨酸脱羧酶
痢疾志贺菌	A1-10	8a，8b，8c	－	－
福氏志贺菌	B1-6，x，y变型	1a，1b，2a，2b，3a，3b，3c，4a，4b	+	－
鲍氏志贺菌	C1-18		+	－
宋内志贺菌	D1		+	+

A群：即痢疾志贺菌（S. dysenteriae）。有10个血清型，其中8型尚可分3个亚型。是唯一不能发酵甘露醇的一群志贺菌。

B群：即福氏志贺菌（S. flexneri）。有13个血清型（包括变型和亚型），各型间有交叉反应。

C群：即鲍氏志贺菌（S. boydii）。有18个血清型。

D群：即宋内志贺菌（S. sonnei）。抗原单一，只有1个血清型。宋内志贺菌有Ⅰ相和Ⅱ相两个交叉变异相。Ⅰ相呈S型菌落，对小鼠有致病力，多自急性期感染患者标本中分离得到。Ⅱ相为R型菌落，对小鼠不致病，常从慢性患者或带菌者中检出。Ⅰ相抗原受控于一个相对分子质量为140×10^6的大质粒，若质粒丢失，Ⅰ相抗原不能合成，菌则从有毒的Ⅰ相转变为无毒的Ⅱ相。

志贺菌的抵抗力比其他肠道杆菌弱，加热60℃ 10分钟可被杀死。对酸和一般消毒剂敏感。在粪便中，由于其他肠道菌产酸或噬菌体的作用常使本菌在数小时内死亡，故粪便标本应迅速送检。在污染物品及瓜果、蔬菜上，志贺菌可存活10～20天。在适宜的温度下，可在水及食品中繁殖，引起水源或食物型的暴发流行。由于磺胺及抗生素的广泛运用，志贺菌的耐药性日益增高，即使在边远地区分离的志贺菌也常见4～8种耐药谱，严重影响临床疗效。

二、致病性与免疫性

（一）致病物质

主要是侵袭力和内毒素，但有的菌株可产生外毒素。

1. 侵袭力　志贺菌有菌毛，不是黏附于分化的黏膜细胞，而是先黏附并侵入位于派伊尔淋巴结

(Peyer's patches)的M细胞。细菌黏附后，通过Ⅲ型分泌系统向上皮细胞和巨噬细胞分泌4种蛋白(IpaA，IpaB、IpaC，IpaD)，这些蛋白诱导细胞膜凹陷，导致细菌的内吞，促进了侵入的过程。志贺菌能溶解吞噬小泡，进入细胞浆内生长繁殖。通过宿主细胞内肌动纤维的重排，推动细菌进入毗邻细胞，开始细胞到细胞的传播。这样，细菌逃避了免疫的清除作用而得到了自身保护，并通过诱导细胞程序性死亡从吞噬中得到了存活。在这过程中，引起白细胞介素-1β的释放，吸引多形核白细胞到感染组织，致使肠壁的完整性遭到破坏，细菌从而得以到达较深层的上皮细胞，加速了细菌的扩散。坏死的黏膜、死亡的白细胞、细胞碎片、纤维蛋白和血液构成脓血黏液便。细菌侵入血流罕见。

志贺菌的黏附、侵袭、胞内繁殖、细胞间扩散等活性编码基因均存在于一个相对分子质量为140×10^6的大质粒上。这个大质粒一旦丢失，有毒株就变成无毒株。

2. 内毒素　志贺菌所有菌株都有强烈的内毒素。内毒素作用于肠黏膜，使其通透性增高，进一步促进对内毒素的吸收，引起发热、神志障碍，甚至中毒性休克等一系列症状。内毒素破坏肠黏膜，可形成炎症、溃疡，呈现典型的脓血黏液便。内毒素尚能作用于肠壁自主神经系统，使肠功能发生紊乱，肠蠕动失调和痉挛。尤其是直肠括约肌痉挛最明显，因而出现腹痛、里急后重等症状。

3.外毒素　A群志贺菌Ⅰ型和Ⅱ型能产生一种外毒素称为志贺毒素(shiga toxin，ST)。ST能引起Vero细胞病变，作为一种肠毒素，它与大肠埃希菌Vero毒素一样可引起腹泻，并且可能源于同样的分子机制，故亦称Vero毒素(Vero toxin，VT)。VT分VT-Ⅰ和VT-Ⅱ两种，A群志贺菌产生的ST属VT-Ⅰ型。ST具有3种生物学活性：①肠毒素性。具有类似大肠埃希菌、霍乱弧菌肠毒素的作用，此可解释疾病早期出现的水样腹泻；②细胞毒性。对人肝细胞、HeLa细胞、Vero细胞均有毒性，以HeLa细胞最为敏感；③神经毒性。严重的志贺痢疾杆菌感染可引起中枢神经系统病变，并可能致命。

ST由位于染色体上的stxA和stxB基因编码。与EHEC产生的毒素相同，ST亦由1个A亚单位和5个B亚单位组成。B亚单位与宿主细胞糖脂(Gb3)结合、导入细胞内的A亚单位作用于60S核糖体亚单位的28S rRNA，阻止与氨酰tRNA的结合，致使蛋白质合成中断。毒素作用的基本表现是上皮细胞的损伤，但在小部分患者志贺毒素可介导肾小球内皮细胞的损伤，导致溶血性尿毒综合征(HUS)。

(二)所致疾病

志贺菌引起细菌性痢疾。传染源是患者和带菌者，无动物宿主。主要通过粪-口传播。急性患者排菌量大，每克粪便可有$10^5\sim10^8$个菌体，传染性强；慢性病例排菌时间长，可长期储存病原体；恢复期患者带菌可达2～3周，有的可达数月。人类对志贺菌较易感，少至200个菌就可发病。

志贺菌随饮食进入肠道，潜伏期一般1～3天。痢疾志贺菌感染患者病情较重，宋内志贺菌多引起轻型感染，福氏志贺菌感染易转变为慢性，病程迁延。我国常见的流行型别以B群福氏志贺菌为主。

志贺菌感染有急性和慢性两种类型，病程在两个月以上者属慢性。急性细菌性痢疾常有发热、腹痛、里急后重等症状，并脓血黏液便。若及时治疗，预后良好。如治疗不彻底，可转为慢性。症状不典型者，易被误诊，影响治疗而造成慢性和带菌。急性感染中有一种中毒性痢疾，以小儿为多见。无明显的消化道症状，主要表现为全身中毒症状。此因其内毒素致使微血管痉挛、缺血和缺氧，导致DIC、多器官功能衰竭、脑水肿，死亡率高。各型志贺菌都有可能引起。

在少数人，细菌可在结肠形成无症状的定植，成为持续的传染源。

免疫性　志贺菌感染几乎只局限于肠黏膜层。一般不入血，故其抗感染免疫主要是消化道黏膜表面的分泌型IgA(SIgA)。病后免疫期短，也不巩固，其原因除菌停留在肠壁局部外，志贺菌的型别多也是原因之一。

三、微生物学检查法

标本 取材应挑取粪便的脓血或黏液部分。若不能及时送检，宜将标本保存于30%甘油缓冲盐水或专门运送培养基内。中毒性痢疾患者可取肛拭。

分离培养与鉴定 标本接种于肠道鉴别或选择培养基上，37℃孵育18～24小时。挑取无色半透明可疑菌落，作生化反应和血清学试验，以确定其菌群（种）和菌型。

毒力试验 测定志贺菌的侵袭力可用Senery试验。系将受试菌18～24小时的固体培养物，以生理盐水制成9亿cfu/ml菌悬液，接种于豚鼠眼结膜囊内。若发生角膜结膜炎，则Senery试验阳性，表明受试菌有侵袭力。志贺菌ST的测定，可用HeLa细胞或Vero细胞，也可用PCR技术直接检测其产毒基因stxA、stxB。

快速诊断法

1. 免疫染色法 将粪便标本与志贺菌抗血清混匀，在光镜下观察有无凝集现象。

2. 免疫荧光菌球法 将标本接种于含有荧光素标记的志贺菌免疫血清液体培养基中，37℃孵育4～8小时。若标本中含有相应型别的志贺菌存在，则生长繁殖后与荧光抗体凝集成小球，在荧光显微镜下易被检出。

3. 协同凝集试验 是以志贺菌IgG抗体与CowanⅠ葡萄球菌结合成为试剂，用来检测患者粪便中有无志贺菌可溶性抗原。

4. 胶乳凝集试验 用志贺菌抗血清致敏胶乳，使与粪便中的志贺菌抗原起凝集反应。也可用志贺菌抗原致敏胶乳，来诊断粪便中有无志贺菌抗体。

5. 分子生物学方法 PCR技术、基因探针检测相对分子质量为140×10^6的大质粒等。

四、防治原则

鉴于志贺菌的免疫防御机制主要是分泌至肠黏膜表面的SIgA，而SIgA需由活菌作用于黏膜局部才能诱发。因此，接种死疫苗防御志贺菌感染的试验已经放弃，现致力于活疫苗的研究。例如链霉素依赖株（streptomycin dependent strain，Sd）活疫苗是一种变异株，环境中存在有链霉素时能生长繁殖。将其制成活疫苗给志愿者口服后因正常人体内不存在链霉素，该Sd株不能生长繁殖；但也不立即死亡，可激发局部免疫应答，产生SIgA。同时，血清中的IgM、IgG特异抗体也增多。Sd活疫苗的免疫保护具有特异性。目前已能生产多价志贺菌Sd活疫苗。如将志贺菌的大质粒导入另一弱毒或无毒菌中，形成二价减毒活疫苗。曾被选为研究对象的有宋内志贺菌与伤寒沙门菌Ty21a的杂交疫苗等。非特异性预防应以人为中心，采取卫生监测水和食品，隔离患者和消毒排泄物等措施，防止人的感染和传播。

治疗志贺菌感染的药物颇多，但很易出现多重耐药菌株。同一菌株可对5～6种甚至更多药物耐药，给防治工作带来很大困难。

第三节 沙门菌属

沙门菌属（*Salmonella*）是一群寄生在人类和动物肠道中，生化反应和抗原结构相关的革兰阴性杆菌。根据生化反应，DNA同源性等，沙门菌属分为肠道沙门菌（*S. enterica*）和邦戈沙门菌（*S. bongori*）两个种。肠道沙门菌又分为6个亚种，即肠道亚种（*Subsp. enterica*）、萨拉姆亚种（*Subsp. salamae*）、亚利桑那亚种（*Subsp. arizanae*）、双亚利桑那亚种（*Subsp. diarizonae*）、豪顿亚种（*Subsp. houtenae*）和英迪加亚种（*Subsp. indica*）。

沙门菌属细菌的血清型在2500种以上，广泛分布于自然界，包括所有脊椎动物的肠道和很多种类的节肢动物中。大多数动物感染无症状或为自限性胃肠炎。少数血清型有严格的宿主特异性，

即所谓“宿主适应株”。如引起肠热症的伤寒沙门菌、甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌主要是人的病原菌，极少能从动物中分离到。另有一些沙门菌有特殊的动物宿主，如猪霍乱沙门菌为猪，都柏林沙门菌（*S. Dublin*）为牛等。这种以家畜家禽为特殊宿主的沙门菌，偶尔也可感染人，是人畜共患病的病原菌。

一、生物学性状

革兰阴性杆菌，大小宽0.6～1.0μm，长2～4μm。除鸡沙门菌和雏沙门菌（*S. pullorum*）等个别例外，都有周身鞭毛，一般无荚膜，均无芽胞。

兼性厌氧，营养要求不高，在普通琼脂平板上形成中等大小、无色半透明的S型菌落。

不发酵乳糖或蔗糖。对葡萄糖、麦芽糖和甘露糖发酵，除伤寒沙门菌不产气外，其他沙门菌均产酸产气。生化反应对沙门菌属的种和亚种鉴定有重要意义（表8-4）。

表8-4 主要沙门菌的生化特性

菌 名	葡萄糖	乳糖	甘露醇	H_2S	靛基质	VP	甲基红	枸橼酸盐	动力
甲型副伤寒沙门菌	⊕	–	⊕	–/+	–	–	+	+	+
肖氏沙门菌	⊕	–	⊕	+++	–	–	+	±	+
鼠伤寒沙门菌	⊕	–	⊕	+++	–	–	+	+	+
希氏沙门菌	⊕	–	⊕	+	–	–	+	+	+
猪霍乱沙门菌	⊕	–	⊕	+/–	–	–	+	+	+
伤寒沙门菌	+	–	+	–/+	–	–	+	–	+
肠炎沙门菌	⊕	–	⊕	+++	–	–	+	–	+

+：阳性或产酸；⊕：产酸产气；–：阴性

沙门菌属细菌的抗原主要有O和H 两种抗原，少数菌中尚有一种表面抗原，功能上与大肠埃希菌的K抗原类同。一般认为它与毒力有关，故称Vi抗原。

沙门菌O抗原为细菌细胞壁脂多糖中多糖部分，100℃不被破坏。O抗原至少有58种，以阿拉伯数字顺序排列，现已排至67（其中有9种被删除）。每个沙门菌属的血清型含一种或多种O抗原。凡含有相同抗原组分的归为一个组，则可将沙门菌属分成A～Z、O51～O63、O65～O67 42个组。引起人类疾病的沙门菌大多数在A～E组。

据Popoff等报道，1995年时沙门菌属血清型已有2399个，其中绝大部分分布在肠道沙门菌各亚种：即肠道亚种1 416、萨拉姆亚种477、亚利桑那亚种94、双亚利桑那亚种371、豪顿亚种66和英迪加亚种10个血清型。至于邦戈沙门菌，仅19个血清型。

沙门菌H抗原存在于鞭毛蛋白，不耐热，60℃ 30分钟即被破坏。H抗原分第Ⅰ相和第Ⅱ相两种，第Ⅰ相特异性高，又称特异相，以a、b、c……表示。第Ⅱ相特异性低，可为多种沙门菌共有。故亦称非特异相，以1、2、3……表示，一个菌株同时有第Ⅰ相和第Ⅱ相H抗原的称双相菌，仅有一相者为单相菌。每一组沙门菌根据H抗原不同，可进一步将组内沙门菌分成不同菌型。

沙门菌的表面抗原主要是Vi抗原，新分离的伤寒沙门菌和希氏沙门菌（原称丙型副伤寒沙门菌，S.paratyphi C）有Vi抗原。Vi抗原由聚-N-乙酸-D半乳糖氨糖醛酸组成，不稳定，经60℃加热，苯酚处理或传代培养后易消失。Vi抗原存在于菌表面，可阻止O抗原与其相应抗体的凝集反应。

沙门菌对理化因素的抵抗力较差，湿热65℃ 15～30分钟即被杀死。对一般消毒剂敏感，但对某些化学物质如胆盐、煌绿等的耐受性较其他肠道菌强，故用作沙门菌选择培养基的成分。本菌在水中能存活2～3周，粪便中可存活1～2个月，在冰中能存活更长时间。

常见沙门菌的抗原组成见表8-5。

表8-5 常见沙门菌的抗原成分

组	菌 名	O抗原	H抗原	
			第一相	第二相
A组	甲型副伤寒沙门菌（*S. paratyphi A*）	1，2，12	a	–
B组	肖氏沙门菌（*S. schottmuelleri*）	1，4，5，12	b	1，2
	斯坦利沙门菌（*S. stanley*）	4，5，12	d	1，2
	德尔卑沙门菌（*S. derby*）	1，4，12	f，g	–
	鼠伤寒沙门菌（*S. typhimurium*）	1，4，5，12	i	1，2
	海登堡沙门菌（*S. heidelberg*）	4，5，12	r	1，2
C1组	希氏沙门菌（*S. hirschfeldii*）	6，7，Vi	c	1，5
	猪霍乱沙门菌（*S. cholerae-suis*）	6，7	c	1，5
	孔成道夫沙门菌（*S. kunzondolf*）	6，7	–	1，5
	汤卜逊沙门菌（*S. thompson*）	6，7	k	1，5
	波斯坦沙门菌（*S. potsdam*）	6，7	l，v	e，n，z15
C2组	纽波特沙门菌（*S. newport*）	6，8	e，h	1，5
	疯牛沙门菌（*S. bovcis-morbificans*）	6，8	r	1，5
D组	仙台沙门菌（*S. sandai*）	1，9，12	a	1，5
	伤寒沙门菌（*S. typhi*）	9，12，Vi	d	–
	肠炎沙门菌（*S. enteridis*）	1，9，12	a	–
	都伯林沙门菌（*S. dublin*）	1，9，12	g，p	–
	鸡沙门菌（*S. gallinarum*）	1，9，12	–	–
E1组	鸭沙门菌（*S. anatum*）	3，10	e，h	1，6
	火鸡沙门菌（*S. meleagridis*）	3，10	e，h	1，6
E2组	纽因顿沙门菌（*S. newington*）	3，15	e，h	1，6
E3组	山夫顿堡沙门菌（*S. senftonberg*）	1，3，19	g，s，t	–
F组	阿伯丁沙门菌（*S. aberdeen*）	11	i	1，2

二、致病性

（一）致病物质

沙门菌感染必须经口进入足够量的细菌，以克服机体防护屏障，特别是胃酸的作用，定位于小肠才能引发疾病的产生。根据志愿者研究结果，大多血清型，包括伤寒沙门菌，半数感染量在106～109cfu之间。但暴发流行时，自然感染中感染剂量一般都低于10^3cfu，有时甚至少于100个cfu。

沙门菌有较强的内毒素，并有一定的侵袭力，个别菌株尚能产生肠毒素。

1. 侵袭力　沙门菌有毒株能侵袭小肠黏膜，经回肠黏膜上一类称为M（microfold，微皱褶）细胞的特殊上皮细胞进入机体。其步骤是菌先黏附至M细胞表面；引发细胞肌动蛋白重排、内在化，菌于吞噬泡内繁殖,并释放至上皮下区被固有层中的巨噬细胞吞噬。沙门菌的黏附和穿入宿主细胞，由染色体上的侵袭素基因inv介导。

伤寒沙门菌和希氏沙门菌在宿主体内可以形成Vi抗原。该抗原具有微荚膜功能，能抗御吞噬细胞的吞噬和杀伤，并阻挡抗体、补体等破坏菌体作用。

2. 内毒素　沙门菌死亡后释放出的内毒素，可引起宿主体温升高、白细胞数下降，大剂量时导致中毒症状和休克。这些与内毒素的激活补体替代途径产生C3a、C5a等，以及诱发免疫细胞分泌TNF-α、IL-1、IFN-γ等细胞因子有关。

3. 肠毒素　个别沙门菌如鼠伤寒沙门菌可产生肠毒素，其性质类似ETEC产生的肠毒素。

（二）所致疾病

只对人类致病的仅有引起伤寒和副伤寒的沙门菌。有不少沙门菌是人畜共患病的病原菌。动物宿主范围很广。家畜有猪、牛、马、羊、猫、狗等，家禽有鸡、鸭等；野生动物如狮、熊、鼠类，以及冷血动物、软体动物、环形动物、节肢动物等均可带菌。人类因食用患病或带菌动物的肉、乳、蛋或被病鼠尿污染的食物等而罹患（表8-6）。

表8-6 沙门氏菌引起的临床疾病

	肠热症	败血症	小肠结肠炎
潜伏期	7～20天	不定	8～48小时
发病	不易察觉	急性发作	急性发作
发热	温度逐渐升高，然后持续高热，伴有伤寒状态	快速升高，然后达“败血症”的温度	较低
病程	数周	不定	2～5天
肠胃症状	通常开始便秘，随后血性腹泻	通常无不适	恶心，呕吐，发作时血性腹泻
血样本培养	病后1～2周呈阳性	高热时呈阳性	阳性
粪便样本培养	病后早期阴性，第2周呈阳性	罕见阳性	发病不久即呈阳性

人类沙门菌感染有4种类型：

1. 肠热症　包括伤寒沙门菌引起的伤寒，以及甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌（原称乙型副伤寒沙门菌，*S. Paratyphi* B）、希氏沙门菌引起的副伤寒。伤寒和副伤寒的致病机制和临床症状基本相似，只是副伤寒的病情较轻，病程较短。沙门菌是兼性胞内寄生菌（facultative intracellular parasites），虽可在人工培养基中生长，但在机体内多被巨噬细胞吞噬后，细菌能在吞噬体中生存和繁殖。部分细菌通过淋巴液到达肠系膜淋巴结大量繁殖后，经胸导管进入血流引起第一次菌血症。患者出现发热、不适、全身疼痛等前驱症状。菌随血流进入肝、脾、肾、胆囊等器官并在其中繁殖后，再次入血造成第二次菌血症。该时症状明显，持续高热，出现相对缓脉，肝脾肿大，全身中毒症状显著，皮肤出现玫瑰疹，外周血白细胞明显下降。胆囊中的细菌通过胆汁进入肠道，一部分随粪便排出体外，另一部分再次侵入肠壁淋巴组织，使已致敏的组织发生超敏反应，导致局部坏死和溃疡，严重的有出血或肠穿孔并发症。肾脏中的病菌可随尿排出。以上病变在疾病的第2～3周出现。若无并发症，自第3～4周后病情开始好转。5%～10%未经治疗的患者，可出现复发。与初始疾病相比，病程一般较短，病情较轻，但也有严重病例，甚至死亡者。未经治疗的典型伤寒患者死亡率约为20%，轻型和无症状感染并非不常见。在地方性流行区，特别是同时存在血吸虫的地区，可出现伴随慢性菌血症，发热长达数月的慢性感染。

2. 胃肠炎（食物中毒）　是最常见的沙门菌感染，约占70%。由摄入大量鼠伤寒沙门菌、猪霍乱沙门菌、肠炎沙门菌等污染的食物引起。潜伏期6～24小时。起病急，主要症状为发热、恶心、呕吐、腹痛、水样泻，偶有黏液或脓性腹泻。严重者伴迅速脱水，可导致休克、肾衰竭而死亡，此大多发生在婴儿、老人和身体衰弱者。一般沙门菌胃肠炎多在2～3天自愈。

3. 败血症　多见于儿童和免疫力低下的成人。病菌以猪霍乱沙门菌、希氏沙门菌、鼠伤寒沙门菌、肠炎沙门菌等常见。症状严重，有高热、寒战、厌食和贫血等。因病菌侵入血循环引起败血症，可随血流导致脑膜炎、骨髓炎、胆囊炎、心内膜炎等发生。

4. 无症状带菌者　指在症状消失后1年仍可在其粪便中检出有相应沙门菌。约有1%～5%伤寒或副伤寒患者可转变为无症状带菌者。这些菌留在胆囊内，有时也可在尿道内，成为人类伤寒和副伤寒病原菌的储存场所。年龄和性别与无症状带菌关系密切。20岁以下，无症状带菌率常小于1%，而50岁以上者，可达10%以上。女性转变为无症状带菌状态是男性的2倍。其他沙门菌感染，50%

患者在5周内停止排菌，90%在感染后9周培养阴性，转变为无症状带菌者很少，不到1%，故在人类的感染中不是主要的传染源。

三、免疫性

肠热症沙门菌侵入宿主后，主要在细胞内生长繁殖，因而要彻底杀灭这类兼性胞内寄生菌，特异性细胞免疫是主要防御机制。在致病过程中，沙门菌亦可有存在于血流和细胞外的阶段，故特异性抗体也有辅助杀菌作用。故肠热症后可获得一定程度的免疫性。恢复后2～3周复发的情况存在，但比首次感染要轻得多。胃肠炎的恢复与肠道局部产生SIgA有关。

四、微生物学检查法

标本 肠热症因病程不同采取不同标本。第1周取外周血，第1～3周取骨髓液，第2周起取粪便和尿液。胃肠炎取粪便、呕吐物和可疑食物。败血症取血液。

分离培养与鉴定 血液和骨髓液需要增菌，然后再划种于血琼脂平板；粪便和经离心的尿沉淀物等直接接种于肠道鉴别培养基或S-S（Salmonella-Shigella）选择培养基。37℃孵育24小时后，挑取无色半透明的乳糖不发酵菌落接种至双糖或三糖铁培养基。若疑为沙门菌，再继续作系列生化反应，并用沙门菌多价抗血清作玻片凝集试验予以确定。

近有学者采用SPA协同凝集试验、对流免疫电泳、乳胶凝集试验和ELISA法等，来快速早期诊断粪便、血清或尿液中的沙门菌等可溶性抗原。

分子生物学技术亦可用于沙门菌感染的诊断中。基因探针可检出标本中的伤寒沙门菌量需1000个；而PCR法对10个伤寒沙门菌就可检出。

在流行病学调查和传染源追踪中，Vi噬菌体分型则是一种常用方法。标准Vi噬菌体有33个型，其特异性比血清学分型更为专一。

血清学诊断 肠热症由伤寒沙门菌和甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌、希氏沙门菌所引起，病程长。因目前普遍使用抗生素，肠热症的症状常不典型，临床标本阳性分离率低，故血清学试验仍有其协助诊断意义。用于肠热症的血清学试验有肥达（Widal）试验、间接血凝法、ELISA法等，其中肥达试验仍较普及。

肥达试验是用已知伤寒沙门菌菌体（O）抗原和鞭毛（H）抗原，以及引起副伤寒的甲型副伤寒沙门菌、肖氏沙门菌和希氏沙门菌H抗原的诊断菌液与受检血清作试管或微孔板凝集试验，测定受检血清中有无相应抗体及其效价的试验。

肥达试验结果的解释必须结合临床表现、病程、病史，以及地区流行病学情况。

1. 正常值 人们因沙门菌隐性感染或预防接种，血清中可含有一定量的有关抗体，且其效价随地区而有差异。一般是伤寒沙门菌O凝集效价≥80，H凝集效价≥160，引起副伤寒的沙门菌H凝集效价≥80时才有诊断价值。

2. 动态观察 有时单次效价增高不能定论，可在病程中逐周复查。若效价逐次递增或恢复期效价比初次≥4倍者即有诊断意义。

3. O抗体与H抗体的诊断意义 患伤寒或副伤寒后，O抗体与H抗体在体内的消长情况不同。IgM类O抗体出现较早，持续约半年，消退后不易受非伤寒沙门菌等病原体的非特异刺激而重现。lgG类H抗体则出现较晚，持续时间长达数年，消失后易受非特异性病原刺激而能短暂地重新出现。因此，O抗体、H抗体凝集效价均超过正常值，则肠热症的可能性大；如两者均低，患病可能性小；若O抗体不高H抗体高，有可能是预防接种或非特异性回忆反应；如O抗体高H抗体不高，有可能是感染早期或与伤寒沙门菌O抗原有交叉反应的其他沙门菌（如肠炎沙门菌）感染。

4. 其他 有少数病例，在整个病程中，肥达试验始终在正常范围内。其原因可能由于早期使用抗生素治疗，或患者免疫功能低下等所致。

伤寒不同病期血、粪、尿中的病原菌和特异性O凝集素的检出阳性率见图8-4。

伤寒带菌者的检出　分离出病原菌是最可靠的方法。标本采取可疑者粪便、肛拭子、胆汁或尿液，但检出率不高。一般可先用血清学方法检测可凝者vi抗体效价，若要1：10时，再反复取粪便等标本进行分离培养，以确定是否为伤寒带菌者。

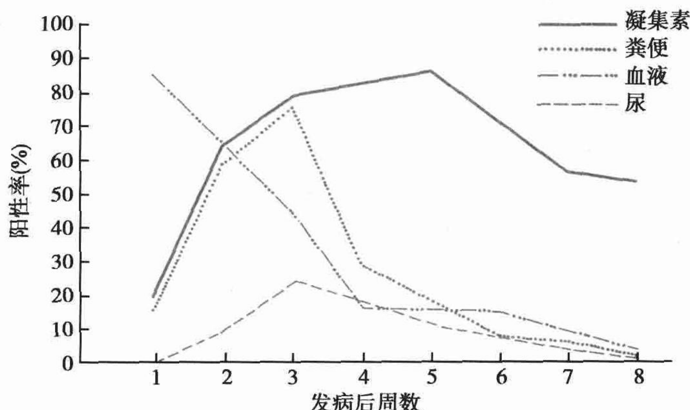


图8-4　伤寒患者不同病期血、粪、尿中病原菌和特异凝集素的检出阳性率

五、防治原则

伤寒、副伤寒的免疫预防，过去一直沿用皮下接种死疫苗。虽有一定的保护作用，但效低、副反应大，不够理想。

目前国际上新一代疫苗是伤寒Vi荚膜多糖疫苗，该疫苗安全，较少不良反应，且易于制造保存，运输方便，注射一针即可具有一定的保护力，免疫持久，有效期至少3年。

肠热症的治疗早期使用的是氯霉素。1948年即开始使用，使原死亡率达20%、持续几周危及生命的严重疾病成为短期的发热性疾病，死亡率不足2%。但由于氯霉素对骨髓的毒性作用，同时，20世纪70年代在世界各地也广泛出现了质粒介导的氯霉素耐药菌株，开始使用其他替代药物，主要是功效与氯霉素相当的氨苄西林、增效磺胺和环丙沙星。

第四节　肠道杆菌科的其他菌属

一、克雷伯菌属

克雷伯菌属（*Klebsiella*）共有7个种，革兰阴性、球杆状、无鞭毛、多数菌株有菌毛。与其他肠杆菌科的细菌相比，最显著的特点是有较厚的多糖荚膜，在普通培养基上能生长，呈黏液型菌落，以接种环挑之易拉成丝，此特征有助于鉴别。荚膜与其毒力有关。其中肺炎克雷伯菌肺炎亚种（*K. pneumoniae ssp. pneumoniae*）俗称肺炎杆菌和催娩克雷伯菌（*K. oxytoca*），是最常见的分离菌种。肺炎杆菌有80多个型，K抗原是分型的依据。肺炎亚种大多属于3、12型；臭鼻亚种几乎全为4型，少数5或6型；鼻硬结亚种多数为3型。

肺炎克雷伯菌是本属中最重要的致病菌，50%的健康人体的呼吸道与粪便中可分离出此菌。细菌性肺炎病例中有1%是由肺炎克雷伯菌引起的。

肺炎克雷伯菌肺炎亚种存在于人类肠道、呼吸道以及水和谷物。当机体免疫力降低或长期大量使用抗生素导致菌群失调时引起感染。易感者有糖尿病和恶性肿瘤患者、全身麻醉者、年老体弱者和婴幼儿等。常见有肺炎、支气管炎、泌尿道和创伤感染，有时引起严重的败血症、脑膜炎、腹膜炎等，目前是除大肠埃希菌外的医源性感染中最重要条件致病菌。

肺炎克雷伯菌鼻炎亚种，俗称臭鼻杆菌，能引起慢性萎缩性鼻炎，侵犯鼻咽部，使组织发生坏死。

肉芽肿克雷伯菌是引起生殖器和腹股沟部位的肉芽肿疾病的病原体。

二、变形杆菌属

变形杆菌属（*proteus*）为肠道的正常菌群，但在自然界分布也很广，存在于土壤、污水和垃圾中。有8个种。其中奇异变形杆菌（*P. mirabilis*）和普通变形杆菌（*P. vulgaris*）两个菌种与医学关

系比较密切。

革兰阴性，有明显多形性，可为球状或丝状，无荚膜，幼龄培养物中有周身鞭毛，运动活泼。有菌毛，可黏附至植物和真菌细胞表面，但不能与动物或人类细胞黏附。营养要求不高，在固体培养基上呈扩散性生长，形成以菌接种部位为中心的厚薄交替、同心圆形的层层波状菌苔，称为迁徙生长现象（swarming growth phenomenon）。若在培养基中加人0.1%苯酚、0.4%硼酸或4%乙醇，或将琼脂浓度增加至5%，则抑制鞭毛生长，迁徙现象消失，形成一般的菌落，能迅速分解尿素，是本菌属的一个重要特征。不发酵乳糖，在S.S平板上的菌落形态和在双糖管中的生化反应模式与沙门菌属十分相似，可用尿素发酵试验加以区别。

变形杆菌属根据菌体抗原分群，再以鞭毛抗原分型，现至少有100多个血清型。普通变形杆菌X19、X2和XK菌株含有的菌体O抗原，可与斑疹伤寒立克次体和恙虫病立克次体的部分抗原发生交叉反应，故用以代替立克次体作为抗原与患者血清进行凝集反应，此称为外斐试验（Weil-Felix test），以辅助诊断有关的立克次体病。现证明变形杆菌与立克次体间抗原的相同部分是其耐热、耐稀碱的组分。

变形杆菌在自然界分布很广，存在于土壤、污水和垃圾中，人和动物的肠道也经常存在。在肠道中一般不致病。

奇异变形杆菌和普通变形杆菌是仅次于大肠埃希菌的泌尿道感染的主要病原菌。其尿素酶可分解尿素产氨，使尿液pH增高，碱性环境有利于变形杆菌的生长和对尿道上皮也有毒性作用，肾结石和膀胱结石的形成可能与变形杆菌感染有关。变形杆菌高度的运动能力与其对泌尿系统的侵袭有关。有的菌株尚可引起脑膜炎、腹膜炎、败血症和食物中毒等。潘氏变形杆菌偶从临床标本中分离到，是引起医院感染的重要病原菌。产黏变形杆菌尚未从人类感染中分离出。

三、肠杆菌属

肠杆菌属（*Enterobacter*）有14个种，引起人类感染的肠杆菌科细菌主要有产气肠杆菌（*E. aerogenesr*）和阴沟肠杆菌（*E. cloacae*）。革兰阴性粗短杆菌，周身鞭毛，无芽胞，有的菌株有荚膜。营养要求不高，在普通琼脂平板上形成湿润、灰白或黄色的黏液状大菌落。发酵乳糖，不产生硫化氢。

肠杆菌属是肠杆菌科中最常见的环境菌群，但不是肠道的常居菌群，是条件致病菌。

产气肠杆菌和阴沟肠杆菌常可从临床标本中分离到，与泌尿道、呼吸道和伤口感染有关，偶引起败血症和脑膜炎。一般不引起腹泻。

四、沙雷菌属

沙雷菌属（Serratia）有6个种和1个群，革兰阴性小杆菌，周身鞭毛，一般不形成荚膜，但在通气好，低氮和磷的培养基上可形成荚膜。无芽胞。室温下可以生长，营养要求不高，菌落不透明，白色、红色或粉红色，色素有两种。灵菌红素（prodigiosin）非水溶性，不扩散；吡羧酸（pyridine）为水溶性、能扩散的粉红色色素。沙雷菌可自土壤、水，偶从人的粪便中分离到。黏质沙雷菌是细菌中最小的，常用于检查滤菌器的除菌效果。

沙雷菌可自土壤、水、人和动物的粪便中分离到。长期以来认为对人体无害。近来发现黏质沙雷菌可引起住院患者中感染，如肺炎、泌尿道和呼吸道感染、败血症，以及外科术后感染；臭味沙雷菌与医院感染败血症有关；普城沙雷菌亦可致败血症。沙雷菌的主要致病机制有菌毛血凝素，肠杆菌素介导的和产气菌素介导的铁摄取系统，胞外酶和志贺毒素等。

五、枸橼酸杆菌属

枸橼酸杆菌属（*Citrobacter*）有12个种，包括弗劳地枸橼酸杆菌（*C. freundii*）、异型枸橼酸杆

菌（*C. diversus*）和无丙二酸盐枸橼酸杆菌（*C. amalonaticus*）。后又增加了一个无丙二酸盐枸橼酸杆菌生物1群（*C. amalonaticus biogroup 1*）。

革兰阴性杆菌，周身鞭毛，无芽胞，无荚膜。营养要求不高。菌落呈灰白色、湿润、隆起、边缘整齐，直径2～4mm。发酵乳糖，产生硫化氢。其O抗原与沙门菌和大肠埃希菌常有交叉。枸橼酸杆菌广泛存在于自然界，是人和动物肠道的正常菌群，也是机会致病菌。

枸橼酸杆菌广泛存在于自然界，是人和动物肠道的正常菌群成员，也是条件致病菌。弗劳地枸橼酸杆菌引起胃肠道感染，德国报道有的菌株产生Vero毒素，曾暴发出血性肠炎流行，并有HUS并发。异型枸橼酸杆菌可引起新生儿脑膜炎和败血症。无丙二酸盐枸橼酸杆菌偶可自粪便标本中分离到。有时枸橼酸杆菌与产黑色素类杆菌等革兰阴性无芽胞厌氧菌合并感染。

六、摩根菌属

摩根菌属（*Morganella*）有两个亚种，即摩根菌属摩根亚种（M. morganii ssp morganii）和摩根菌属西伯尼亚种（M. morganii ssp sibonii）。摩根菌形态、染色和生化反应特征与变形杆菌相似，但无迁徙现象。以枸橼酸盐阴性、硫化氢阴性和鸟氨酸脱羧酶阳性为其特征。摩根菌属摩根亚种可致住院患者和免疫低下患者泌尿道感染和伤口感染，有时可引起腹泻。

展　望

1. 肠产毒性大肠埃希菌黏附机制　肠产毒性大肠埃希菌的黏附作用主要是分泌的相对分子质量为170×10^6的黏附糖蛋白（EtpA）与细菌鞭毛顶端的鞭毛蛋白分子的保留区域发生相互作用，形成细菌与宿主细胞之间的一个黏附分子桥，由此促进大肠杆菌在肠道上皮细胞的黏附，在致病方面发挥着至关重要的作用。虽然鞭毛蛋白保守区域大多埋藏在鞭毛的轴中，但是它们至少瞬时暴露在鞭毛的顶端，可捕捉EtpA黏附分子，提交给真核受体。对EtpA的分析显示这是一种常见的细菌黏附方式。

EtpA黏附分子的有关研究为革兰氏阳性菌的疫苗研制提供新的思路，改变了以往对鞭毛H抗原血清型多变而不能制作肠产毒性大肠埃希菌疫苗的认识。虽然对其细节还不清楚，但已足以表明EtpA及其类似分子及高度保守的鞭毛蛋白配体可以作为候选的有效抗原靶点，来设计新型的疫苗来预防由ETEC引起的感染，且已有小鼠实验证实相对分子质量为110×10^3大小的部分EtpA序列多肽可以有效阻止ETEC H10407在肠表皮细胞的黏附。

2. 肠杆菌科细菌多重耐药操纵子的研究进展　细菌多重耐药问题已不仅仅是一个重要的医学问题，已经逐渐发展成一个严重的社会问题和全球性公共卫生问题，革兰阴性菌多重耐药性更为突出。多重耐药操纵子是肠杆菌科细菌对外界环境压力反应的调控中心，可控制肠杆菌科细菌对抗生素的敏感性。其位点突变或诱导剂的作用均可干扰和影响mar功能。mar编码转录和激活的蛋白超表达，可调节众多基因转录及改变细菌对药物的转运，使细菌对抗生素、有机溶剂及氧化剂的抗性增加，形成多重耐药表型。近年来整合子作为一个可移动性基因元件，一方面可通过对基因盒的捕获和剪切使基因盒发生移动，另一方面整合子自身位于转座子、质粒等可移动基因元件上使整合子发生移动，从而使耐药基因发生播散，也成为耐药基因水平传播的重要因子。

目前至少已经发现32种不同的整合酶基因，其中与细菌耐药性密切相关的主要是Ⅰ型、Ⅱ型和Ⅲ型及Ⅳ型整合子，Ⅰ型整合子广泛分布于革兰阴性细菌中，如肠杆科细菌中的埃希菌属、志贺菌属、沙门菌属、变形菌属、克雷伯菌属、耶尔森菌属、沙雷菌属、肠杆菌属等，较常见的是编码对β-内酰胺类、氨基糖苷类、甲氧嘧啶、氯霉素和链霉素等抗生素的耐药性。目前发现核苷转移酶基因aadA1a、甲氧苄啶耐药基因dhfr及链丝霉素耐药基因sat整合于Ⅱ型整合子上，此类整合子主要在志贺菌属。此外，在大肠埃希菌属、变形菌属、沙门菌属、不动杆菌属也有发现。破坏耐药

基因恢复细菌对抗生素敏感性的整合子研究是目前耐药问题的研究热点之一，所要解决的问题还很多，诸如整合子整合和剪切基因盒的确切机制、整合子中基因盒的起源，以及整合酶表达和基因盒基因表达之间的关系等都有待进一步明确。

3.微生物的基因组条形码　微生物基因组计划取得的骄人成绩和高通量生物计算技术的快速发展，正改变着当今医学的研究模式。对微生物基因组结构的可视化注释，为研究病原菌的基因功能及致病机制提供了有力的工具。通过对微生物基因组的分析及计算发现，微生物基因组的等长片段区域内，不同长度的随机核苷酸字串的表达谱频率具有一致性，将上述频数矩阵图形化处理，实现对微生物基因组的“条形码”样可视化注释，可定义为基因组条形码。

根据这一理论，任何一个微生物基因组均可表示为唯一的条形码图像，基因组条形码携带了基因组的全部信息，并且与基因组序列一一对应，因而通过基因组条形码可直观的、全局的、准确的注释基因组的遗传信息。不同病原菌具有的条形码结构，关系越相近具有更为相似的条形码图谱，反之亦然。基因条形码可以通过高通量的注释细菌基因组海量地序列数据，实现对病原菌的分类、鉴定及水平转移片段（毒力岛）的预测，揭示基因结构、功能，对诊断及致病性研究产生较大的影响，也为生物学家和临床工作者更好的分析和利用世界范围的人类资源，实现以往认为不可能的研究提供了可能与便利。

（李　凡）

第九章 弧 菌 属

弧菌属（*Vibrio*）的细菌是一大群菌体短小，弯曲成弧形、一端有单鞭毛的革兰阴性菌。弧菌属与肠杆菌科的主要不同点是氧化酶试验阳性（麦契尼可夫弧菌除外）和有位于菌体一端的单鞭毛。弧菌属细菌广泛分布于自然界，以淡水和海水中最多。弧菌属目前已确定有76个种，至少有12个种与人类感染有关，其中霍乱弧菌，副溶血性弧菌和创伤弧菌是重要的致病菌。

The genus *Vibrio* is composed of more than 36 species of curved, gram-negative bacilli with a polar flagellum. A total of 12 species have been implicated in human infections, with *V. cholerae*, *V. parahaemoly* ticus the most prominent. *V. cholerae* the best known members of the species in serotypes are based on their somatic O antigens. Serotype O1 is the most important and can be further subdivided into the biotypes: classical and E1 Tor biotype.

Seven major pandemics of cholera have occurred since 1817, six pandemics of cholera caused be *V. cholerae* O1 of the classic biotype between 1817 and 1923. The Seventh pandemic, which was caused by *V. cholerae* O1 of the E1 Tor biotype, began in Asia in 1961 and then spread to Africa, Europe and America. In 1992 a new non-O1 strain（*V. cholerae* O 139 Bengal）arose in South India and spread rapidly to other countries. *V. cholera* O139 is similar to *V. cholera* O1 El Tor biotype or appears to have originated from the El Tor biotype.

Cholera is spread by contaminated water and food. The clinical features of cholera include vomiting and profuse diarrhoea with rice water stool, contain mucus, epithelial cells and vibrios, and lead to loss of fluid and electrolytes imbalance. The production of enterotoxin in the gastro intestinal tract is central to the pathogenesis of cholera, otherwise the *V. cholera* must possess other virulence factors to reach the small intestine and to adhere to the mucosal cells. Some of chromosomal genes involved in the virulence of V.cholerae O1 and O139 have been characterized, including genes for the two subunits of cholera toxin（*ctxA* and *ctxB*）, the toxin co-regulated pilus（*tcp*）gene complex, accessory cholera enterotoxin（*ace*）, the hemagglutination-protease（*hap*）and so on. The most important of these virulence factors is cholera enterotoxin, which is a A-B toxin complex of five B subunits surrounding the A subunit, the B subunits bind to specific ganglioside receptors on the small intestinal epithelial cells, A subunit enters the mucosal cells and cleaved into two fragments A1 and A2, A1 could increased adenylate cyclase activity and production of cyclic adenosing monophosphate（cAMP）. As a result, a massive outflow of water and electrolytes from the cells and causing rapid secretion of sodium, chloride, potassium and bicarbonate into the intestinal lumen, then profuse diarrhea of cholera appeared.

In countries where cholera is prevalent, diagnosis is based on clinical information, and the taking of V. cholera cultures is necessary in the case of sporadic or imported cases of cholera and to identify carriers.

第一节 霍乱弧菌

霍乱弧菌（*V. cholerae*）是引起烈性肠道传染病霍乱的病原菌，由郭霍（Koch）在1883年首次证实。霍乱弧菌目前有155个血清群，其中O1群又分为古典生物型和E1 Tor生物型。自1817年以来，已发生过7次世界性霍乱大流行，前6次均由古典生物型引起，1961年开始的第7次大流行由El Tor生物型引起。1992年发现一个新的霍乱弧菌血清群（O139血清群）在沿孟加拉湾的印度和孟加拉部分城市传播，并很快波及亚洲、美国和欧洲，这是首次由非O1群霍乱弧菌引起的霍乱流行。

一、生物学性状

形态与染色　霍乱弧菌菌体宽为0.5～0.8μm，长为1.5～3μm。从患者新分离出的细菌形态典型，呈弧型或逗点状（图9-1）。但经人工培养后，细菌常呈杆状而不易与肠道杆菌区别。革兰染色阴性。特殊结构有菌毛，无芽胞，有些菌株（包括O139）有荚膜，在菌体一端有一根单鞭毛。若取患者米泔水样粪便或培养物作悬滴观察，细菌运动非常活泼，呈穿梭样或流星状。

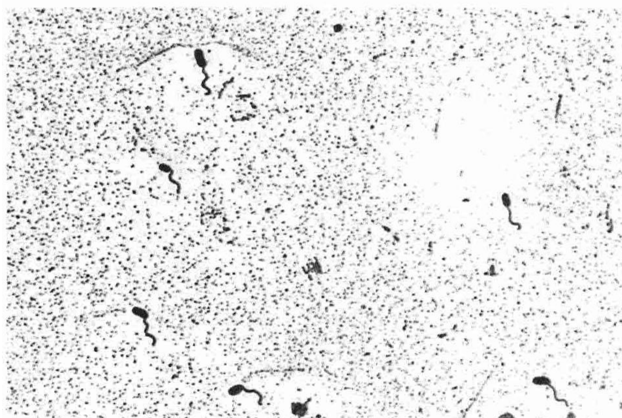


图9-1　霍乱弧菌（鞭毛染色）

培养特性与生化反应　兼性厌氧，营养要求不高。生长繁殖的温度范围广（18～37℃）。耐碱不耐酸，在pH8.8～9.0的碱性蛋白胨水或碱性琼脂平板上生长良好，故初次分离霍乱弧菌常用碱性蛋白胨水增菌。霍乱弧菌可在无盐环境中生长。霍乱弧菌为过氧化氢酶试验阳性，氧化酶为阳性，能发酵很多常见的单糖、双糖和醇糖，产酸不产气；不分解阿拉伯胶糖；能还原硝酸盐，吲哚反应阳性。

抗原构造与分型　霍乱弧菌有耐热的O抗原和不耐热的H抗原。根据O抗原不同，现分为155个血清群，其中O1群、O139群引起霍乱，其余的血清群分布于地面水中，可引起人类胃肠炎等疾病，但从未引起霍乱的流行。H抗原无特异性，为霍乱弧菌的共同抗原。

O1群霍乱弧菌的O抗原由3种抗原因子（A、B、C）组成，据此O1群霍乱弧菌又分为3个血清型：小川型（Ogawa）、稻叶型（Inaba）和彦岛型（Hikojima）（表9-1）。

表9-1　霍乱弧菌O1群血清型

血清型（抗原组分）	O1多克隆抗体	O1单克隆抗体			出现频率	造成流行
		A	B	C		
小川型（AB）	+	+	+	−	常见	是
稻叶型（AC）	+	+	−	+	常见	是
彦岛型（ABC）	+	+	+	+	极少见	未知

"+" 凝集；"－" 不凝集

根据其表型差异，O1群霍乱弧菌的每一个血清型还可分为两个生物型，即古典生物型（classical biotype）和El Tor生物型（El Tor biotype），因其在埃及西奈半岛El Tor检疫站首次分离出而得名。古典生物型不溶解羊红细胞，不凝集鸡红细胞，可被第Ⅳ群噬菌体裂解，而El Tor弧菌则完全相反。

在抗原性方面O139群与O1群之间无交叉，序列分析发现O139群失去了O1群的O抗原基因，出现了一个约36kb的新基因，编码与O1群不同的脂多糖抗原和荚膜多糖抗原，但与O22和O155

等群可产生抗原性交叉。在遗传性方面，如核糖型，限制性酶酶切电泳图谱，外膜蛋白，毒性基因等则与O1群的古典型和El Tor生物型的流行株相似。

抵抗力 本菌不耐酸，在正常胃酸中仅能存活4分钟。55℃湿热15分钟，100℃煮沸1～2分钟，0.5ppm氯作用15分钟能杀死霍乱弧菌。25%次氯酸钙处理患者排泄物或呕吐物，经1小时可达到消毒目的。

二、致病性与免疫性

致病物质 霍乱弧菌的致病物质涉及到染色体上多个基因，它们主要包括由ToxR蛋白调控的*ctxA*、*ctxB*、*tcpA*、*zot*、*ace*等基因。

1. 霍乱肠毒素 是目前已知的致泻性毒素中最强烈的毒素，是肠毒素的典型代表。由一个A亚单位（相对分子质量为27.2×10^3）和5个相同的B亚单位（每个亚单位相对分子质量为11.7×10^3）构成的一个热不稳定性多聚体蛋白，分别由结构基因*ctxA*（cholera toxin A）和*ctxB*编码。B亚单位与小肠黏膜上皮细胞GM1神经节苷脂受体结合后，可插入细胞膜并形成亲水性穿膜通道，有利于A亚单位经该通道进入细胞内。A亚单位在发挥毒性作用前，还需经蛋白酶作用后裂解为A1和A2两条多肽。A1作为腺苷二磷酸核糖基转移酶可使NAD（辅酶Ⅰ）上的腺苷二磷酸核糖（ADP-ribose）转移到G蛋白上，所形成的复合物称为Gs。当Gs活化后，可使细胞内ATP转变为cAMP，cAMP水平升高，细胞主动分泌Na^+、K^+、HCO_3^-和水，导致肠液大量分泌，出现严重的腹泻与呕吐。

在动物的体内实验中还发现，ctx操纵子上游存在的*zot*基因（zonula occludens toxin，小带联结毒素）和*ace*基因（accessory cholera enterotoxin，附属霍乱肠毒素）编码的毒素，也与产生轻度腹泻有关。

2. 鞭毛、菌毛及其他毒力因子 霍乱弧菌的单鞭毛运动有助于细菌穿过肠黏膜表面黏液层而接近肠壁上皮细胞。细菌的普通菌毛是该菌定居于小肠所必需的因子。与此相关基因有*acf*（accessory colonization factor，编码辅助定居因子）和*tcpA*（toxin coregulated pilus A，编码菌毛蛋白中一个相对分子质量为20.5×10^3的重要亚单位）。实验发现使*tcpA*失活后，变异株即失去定居功能和致泻特性。其他毒力因子还有*hlyA*（hemolytic-cytolytic A）基因编码的溶血-溶细胞的蛋白；由*hap*（hemagglutinin/protease）基因编码的血凝素/蛋白酶，有助于细菌从死亡细胞上解离。

O139群除具有上述O1群的致病物质和相关基因外，还存在着多糖荚膜和特殊LPS毒性决定簇，推测其功能是抵抗血清中杀菌物质和对小肠黏膜的黏附，不表达LPS决定簇和荚膜的TnphoA突变株则对血清中的杀菌物质敏感。

所致疾病 引起的霍乱系烈性肠道传染病，属于我国的甲类法定传染病。在自然情况下，人类是霍乱弧菌的唯一易感者。在地方性流行区，除患者外，无症状感染者也是重要传染源。传播途径主要是通过污染的水源或食物经口摄人，人与人之间的直接传播不常见。在正常胃酸条件下，需要食人大量的细菌（10^{10}个）方能引起感染，但当胃酸减少时，感染剂量可减少到10^3～10^5个细菌。

病菌到达小肠后，黏附于肠黏膜表面并迅速繁殖，不侵人肠上皮细胞和肠腺，细菌在繁殖过程中产生肠毒素而致病。O1群霍乱弧菌感染可从无症状或轻型腹泻到严重的致死性腹泻，霍乱弧菌古典生物型所致疾病较El tor生物型严重。典型病例一般在吞食细菌后2～3天突然出现剧烈腹泻和呕吐，在疾病最严重时，每小时失水量可高达1升，排出含有黏膜、上皮细胞以及霍乱弧菌组成的如米泔水样的腹泻物。由于大量水分和电解质丧失而导致失水，代谢性酸中毒，低碱血症和低血容量性休克及心律不齐和肾衰竭，如未经治疗处理，患者死亡率高达60%，但若及时给患者补充液体及电解质，死亡率可小于1%。O139群霍乱弧菌感染比O1群严重，表现为严重脱水和高死亡率。

病愈后一些患者可短期带菌，一般不超过2周，个别El Tor型病例病后可带菌长达数月或数年之久。病菌主要存在于胆囊中。

霍乱患者病后可获得牢固免疫力，再感染少见。患者发病数月后，血液和肠腔中可出现保护性的抗肠毒素抗体及抗菌抗体，抗肠毒素抗体主要针对霍乱毒素B亚单位，抗菌抗体主要针对O抗原。霍乱弧菌引起的肠道局部黏膜免疫是霍乱保护性免疫的基础。肠腔中的sIgA除了可凝集黏膜表面的病菌，使其失去动力外；还可与菌毛等黏附因子结合，阻止霍乱弧菌黏附至肠黏膜上皮细胞；可与霍乱肠毒素B亚单位结合，阻断肠毒素与小肠上皮细胞受体作用。

感染O139群的患者大多为成年人，表明以前感染O1群获得的免疫对O139群感染无交叉保护作用。O139群感染后的免疫应答与感染O1群基本一致。家兔肠道结扎实验和小鼠攻击实验证明，O139群的保护性免疫以针对脂多糖和荚膜多糖的抗菌免疫为主，抗毒素免疫为辅。O1群的脂多糖O抗原与O139群存在显著差异，且O1群还缺少荚膜多糖表面抗原，故其引起的免疫不能交叉保护O139群的感染。

三、微生物学检查法

霍乱是烈性传染病，对首例患者的病原学诊断应快速、准确，并及时做出疫情报告。

标本　患者新鲜粪便，肛拭子；呕吐物；流行病学调查还包括水样。霍乱弧菌不耐酸和干燥。为避免因粪便发酵产酸而使病菌灭活，标本应及时培养或放入碱性蛋白胨水保存液中运输；肠道病原菌常用的甘油盐水缓冲保存液不适用于霍乱弧菌。

直接镜检　革兰染色阴性弧菌，用悬滴法观察到细菌呈穿梭样运动有助于诊断。

分离培养　常将标本首先接种至碱性蛋白胨水增菌，37℃孵育6～8小时后直接镜检并作分离培养。在碱性琼脂平板上培养，菌落成圆形透明状。目前常用的选择培养基为TCBS（thiosulfate-citrate-bile salts sucrose medium），该培养基含有硫代硫酸盐、枸橼酸盐、胆盐及蔗糖，霍乱弧菌因分解蔗糖呈黄色菌落。挑选可疑菌落进行生化反应及与O1群多价和单价血清作玻片凝集反应。此外，还应该与O139群抗血清做凝集反应进行鉴定。

我国已经建立了针对第七次霍乱大流行中O1群EL Tor型霍乱弧菌的噬菌体分型方案，能够准确快速地区分出EL Tor型霍乱弧菌流行株（绝大多数为产毒株）和非流行株（全部为非产毒株）。此外，根据霍乱弧菌对山梨醇发酵的快慢速度，也可以初步鉴别是流行株（发酵慢，8小时后山梨醇变为黄色）还是非流行株（发酵快，4小时使山梨醇变为黄色）。

核酸检测　可以采用环介导等温扩增（loop-mediated isothermal amplification，LAMP）技术，快速检测O139群霍乱弧菌的核酸片段，其特点是针对靶基因的6个区域设计出4种特异引物，利用一种链置换DNA聚合酶（Bst DNA polymerase）在等温条件（65℃左右）下保温几十分钟，即可完成核酸扩增反应。该技术适合基层检验部门及小型实验室应用。

四、防治原则

改善社区环境，加强水源粪便和垃圾管理；培养良好个人卫生习惯，不生食贝壳类海产品等是预防霍乱弧菌感染和流行的重要措施。

以前曾长期使用O1群霍乱弧菌灭活菌苗肌肉注射，虽可增强人群的特异性免疫力，但保护力仅为50%左右，且血清抗体持续时间较短，仅为3～6个月。在认识到肠道黏膜免疫对预防霍乱起主要作用后，目前预防霍乱的重点已转至研制口服疫苗的方向上，主要有灭活的全菌体疫苗和减毒活疫苗。有B亚单位-全菌灭活口服疫苗（BS-WC）、基因工程减毒活菌苗（用基因工程技术去除O1群霍乱弧菌野生株DNA中大部分毒力基因的活疫苗，如CVD_{103}-HgR）、带有霍乱弧菌几个主要保护性抗原的基因工程疫苗等。其中前两种疫苗已进行过大规模人群试验，在某些国家已获准使用。至今世界卫生组织还未正式通过使用任何一种口服霍乱疫苗。

快速、大量地补充液体和电解质以及抗生素治疗，是治疗霍乱的关键；抗生素的使用可减少持续腹泻和外毒素的产生，加速细菌的清除，用于治疗霍乱的抗菌药物有四环素、多西环素、呋喃唑

酮等。但要注意目前带有多重耐药质粒的菌株在增加，且O139群的耐药性强于O1群，给治疗带来一定困难。

第二节　副溶血性弧菌

副溶血性弧菌（*V. parahaemolyticus*）于1950年从日本一次暴发性食物中毒中分离得到。该菌存在于近海的海水、海底沉积物和鱼类、贝壳等海产品中。根据菌体O抗原不同，现已发现13个血清群。该菌主要引起食物中毒，尤以日本、东南亚、美国及我国台湾地区多见，也是我国大陆沿海地区引起食物中毒最常见的一种病原菌。

生物学特性　该菌与霍乱弧菌最显著差别是嗜盐（halophilic），在培养基中以含3.5%NaCl最为适宜，无盐则不能生长。在盐浓度不适宜的培养基中，细菌呈长杆状或球杆状等多种形态。不耐热，90℃ 1分钟即被杀死；不耐酸，1%醋酸或50%食醋中1分钟死亡。

副溶血性弧菌在普通血平板（含羊、兔或马等血液）上不溶血或只产生α溶血。但在特定条件下，某些菌株在含高盐（7%）的人O型血或兔血及以D-甘露醇作为碳源的Wagatsuma琼脂平板上可产生β溶血，称为神奈川现象（Kanagawa phenomenon，KP）。

致病性　引起食物中毒的确切致病机制尚待阐明。KP^+菌株为致病性菌株已肯定。现已从KP^+菌株分离出两种致病因子，其一为耐热直接溶血素（thermostable direct hemolysin，TDH），动物实验表明具有细胞毒和心肌毒两种作用。其基因为双拷贝（*tdh1*和*tdh2*），KP实验中的溶血现象即由*tdh2*位点决定。最近的研究还表明，*tdh*基因家族也广泛存在于人类致病性弧菌中，如大多数霍利斯弧菌菌株（*V. hollisae*），某些拟态弧菌菌株（*V. mimicus*）中有*tdh*基因，非O1群霍乱弧菌中也存在同源性约为93%～96%的*tdh*相关基因，提示该基因与致病关系密切。另一个致病因子为耐热相关溶血素（thermostable related hemolysin TRH），生物学功能与TDH相似，其基因与*tdh*同源性为68%。

其他致病物质可能还包括黏附素和黏液素酶。

由副溶血性弧菌引起的食物中毒系食用了经烹饪不当的海产品或盐腌制品所传播。常见的有海蜇、海鱼、海虾及各种贝类，因食物容器或砧板生熟不分污染本菌后，也可发生食物中毒。该病常年均可发生，潜伏期5～72小时，平均24小时，可从自限性腹泻至中度霍乱样病症，有腹痛、腹泻、呕吐和低热，粪便多为水样，少数为血水样，恢复较快，病后免疫力不强，可重复感染。

诊断与防治　采集患者粪便、肛拭或剩余食物，直接分离培养于SS琼脂平板或嗜盐菌选择平板。若出现可疑菌落，进一步作嗜盐性试验与生化反应，最后用诊断血清进行鉴定。最近已发展了基因探针杂交及PCR快速诊断法，可直接从原始食物标本或腹泻标本中检测耐热毒素基因。

可用抗菌药物治疗，如庆大霉素或复方磺胺甲噁唑/甲氧苄啶（SMZ -TMP）。

展　　望

由O1群和O139群霍乱弧菌引起的霍乱，直到最近的十年依然在非洲、拉丁美洲和亚洲等地区发生。据WHO报告，2000年全球的病死率为3.6%。霍乱弧菌的定居因子（菌毛）和霍乱毒素均与其致病有关。由于霍乱毒素种类较多，有些毒素如在体外和动物研究中显示有肠毒素作用，但在霍乱发病机制中的作用尚不清楚。在ctx操纵子上游还存在两个编码毒性相关的*zot*（zonula occludens toxin，小带联结毒素）、*ace*（accessory cholera enterotoxin，附属霍乱肠毒素）基因。在实验兔中，其编码产物Zot能增加肠黏膜的通透性；Ace使结扎的回肠段中液体聚积。志愿者口服ctxAB缺失的基因工程变异株产生的轻度腹泻可能与这两个毒性基因有关。

此外，还有一些基础科学和流行病学的问题，诸如：缺失-ctx的霍乱弧菌株，为什么还会引起

部分人轻微腹泻？ O139血清群在20世纪90年代是如何产生的？将来是否还会产生新的霍乱弧菌血清群？

近年来，由创伤弧菌（*Vibrio vulnificus*，VV）引起的感染也增多。该菌可以通过损伤的创口，食用污染的海产品或水源而感染。临床表现主要为软组织感染败血症和胃肠炎，部分患者因多器官功能衰竭而死亡。用PCR或RT-PCR方法可以快速检测。

从1883年Koch发现霍乱弧菌以来，开发霍乱疫苗的历程已有110多年，但有关霍乱疫苗的安全性以及有效的免疫保护作用（如减毒霍乱弧菌CVD_{103}-HgR株）等问题，仍有待解决。O139尚无预防性疫苗，候选菌苗正在研制中，思路是制成包括预防O1群和O139群霍乱弧菌感染的二价菌苗。霍乱弧菌基因组序列已确定，将有助于开发出新型的霍乱疫苗。

由于霍乱弧菌全菌体疫苗的抗原成分复杂，有的活疫苗又存在返祖危险性，因此人们把注意力又返回来探索抗原成分较简单的亚单位疫苗。近年来有关抗原表位的肽疫苗思路为研制安全有效的霍乱疫苗提供了新方向，通过设计多表位肽，把多种有效的抗原表位组装在一起后制成多肽疫苗，就可以协同诱导交叉保护性免疫。例如把霍乱弧菌CTB、毒素协调菌毛（TCP）、LPS O抗原等保护性抗原成分，连接到适当的载体蛋白或经基因工程制备成融合蛋白后，就可能研制出既对O1群霍乱又对O139群霍乱有预防作用的疫苗。目前该领域的研究比较活跃，相关的动物试验资料报告较多。

（贾文祥 曾 蔚）

第十章　螺杆菌属和弯曲菌属

幽门螺杆菌是一类革兰染色阴性，呈螺旋形的微需氧细菌，是慢性胃炎的主要病原体，与消化性溃疡和胃癌的发生关系密切。该菌致病特性在于它可以抵抗胃酸的作用，在胃液中生存并定植于胃黏膜上皮细胞，其主要致病物质是侵袭因子和毒素，包括鞭毛、菌毛、细胞毒素相关蛋白A以及空泡毒素等。同时，幽门螺杆菌能够诱导多形核和单核细胞产生氧自由基导致邻近细胞DNA的损伤，诱发细胞癌变。幽门螺杆菌感染后可检测到局部及全身的特异性抗体。常用的微生物检测方法有细菌培养、快速脲素酶试验、血清学检测、C^{13}呼气实验和粪便抗原的检测等。幽门螺杆菌感染多采用质子泵抑制剂加两种抗生素的三联疗法。疫苗在动物实验中显示了一定的免疫保护作用。

空肠弯曲菌是一种革兰染色阴性，呈螺旋形的微需氧细菌，是食源性胃肠炎的主要病因之一。感染的发生与肉类的食用及处理密切相关，也与未经巴氏消毒牛奶的饮用，污染的水源等有关。主要表现为急性、自限性胃肠炎，临床症状为发热，腹泻和腹痛，某些型别的空肠弯曲菌可导致神经系统损伤，表现为格林-巴利综合征。空肠弯曲菌的致病物质有侵袭因子、外毒素和内毒素。感染后血清中可以检测到局部和全身的特异性抗体。微生物检测方法主要包括直接镜检、细菌培养、血清学和分子生物学检测。规范管理动物粪便，防止食物和水源污染，在避免空肠弯曲菌感染中起到重要作用。

Helicobacter pylori is a gram-negative, microaerophilic, and spiral bacterium. It causes chronic gastritis and has much to do with peptic ulcer diseases and gastric carcinoma. The pathogenic properties of H. pylori come from its ability to survive in the gastric liquid, and to colonize the crypts of the gastric mucosa.

The main pathogenic subjects are invasive factors and toxins, such as flagellum, pilus, cytotoxin-associated gene (cagA) and vacuolating cytotoxin (vacA). H. pylori is also able to induce polymorphonuclear and mononuclear cells that produce free radicals to cause DNA damages of the adjacent cells, leading to cancer development. The H. pylori infection is followed by the occurrence of immune activation, including generation of specific local and systemic antibodies. Diagnostic tests include bacteria culture, urease assay, serology tests, ^{13}C-UBT tests and faecal antigen tests. The triple therapy with two antibiotics, amoxicillin and clarithromycin, and a proton pump inhibitor, has been recommended. Vaccine studies in mice performed with various putative vaccine candidate antigens have revealed various degrees of protection.

Campylobacter jejuni is a gram-negative, microaerophilic and spiral bacterium. C. jejuni is the predominant cause of food-borne gastroenteritis. The infection is typically associated with the consumption and handling of chickens and, less frequently, with the consumption of unpasteurized milk, contaminated water, or transmission from household pets or farm animals.The infection caused by C. jejuni usually manifests as acute, self-limited, gastroenteritis typically manifested with fever, diarrhea and abdominal pain. It is reported that some strains of C. jejuni can lead to neurological disorders such as Guillain-Barre syndromes. The pathogenicity of C. jejuni is due to its invasiveness, endotoxin

and exotoxin. A few days after the C. jejuni infection, specific local and systemic antibodies can be detected by serological tests. The main diagnostic methods are microscopic examination, bacteria culture, serological test and molecular biology identification technique. The protections of contaminate food and water from the animal's feces plays an important role in avoiding C. jejuni infection. Application of erythromycin, aminoglycosides and penicillin are effective remedy.

第一节 螺杆菌属

螺杆菌属（Helicobacter）是从弯曲菌属中划分出来的新菌属，目前已有二十余种正式命名的螺杆菌，分成胃螺杆菌和肠肝螺杆菌两大类。代表菌种是幽门螺杆菌（helicobacter pylori），该菌是慢性胃炎的主要病原体，与消化性溃疡和胃癌的发生密切相关，是一级致癌因子。

一、生物学性状

幽门螺杆菌（Helicobacter pylori，H. pylori）的形态呈螺旋形或弧形弯曲状，长2.5～4.0μm，宽0.5～1.0μm，一端有2～6根带鞘鞭毛，运动活泼，革兰染色阴性。在胃黏膜上皮细胞表面以螺旋状或弧形定植（图10-1）；当运用抗生素治疗或胃黏膜发生病理性改变时，幽门螺杆菌可由螺杆状转变成圆球形（图10-2），一般认为圆球形是活的非可培养状态的细菌（The viable but nonculturable state of bacteria）。

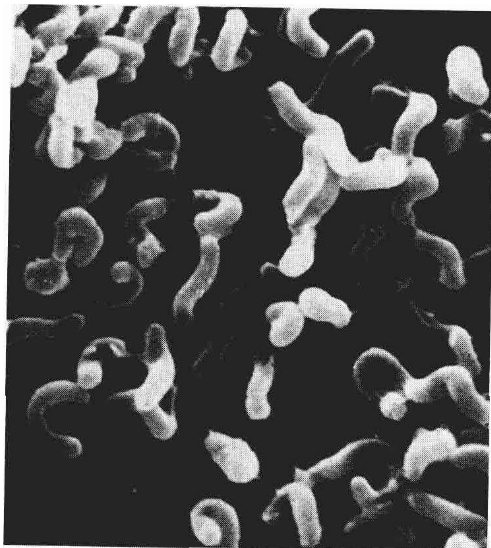


图10-1 螺旋状幽门螺杆菌扫描电镜 ×5000（贾继辉提供）

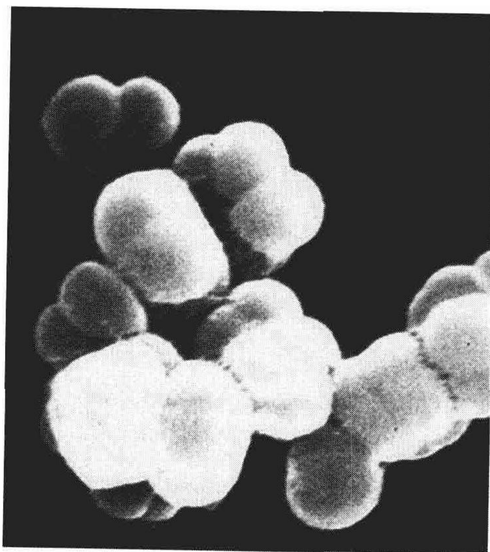


图10-2 幽门螺杆菌球形体扫描电镜 ×10000（贾继辉提供）

幽门螺杆菌是一种微需氧菌，即在85%N_2，10%CO_2和5%O_2的气体环境中生长良好，营养要求较高，在固体培养基中需要加入10%的脱纤维羊血，液体培养基需补充10%的小牛血清。该菌生长缓慢，在加入万古霉素、两性霉素B的选择培养基中原代培养通常需要3～5天，甚至更长时间才能形成针尖状半透明的小菌落。由于幽门螺杆菌含脲素酶，可以分解脲素产氨，因此该菌对酸的耐受力较一般的细菌强。该菌的脲素酶、过氧化氢酶和氧化酶均呈阳性反应，这三项试验是鉴定幽门螺杆菌的主要生化依据。传统的冷冻干燥方法不适宜幽门螺杆菌的保存，置－70℃或液氮中冷冻是常用的菌种保存方法。

二、致病性与免疫性

幽门螺杆菌的主要致病物质为侵袭因子和毒素。与侵袭密切相关的物质为脲素酶、鞭毛和菌毛等，脲素酶通过分解胃黏膜组织渗出的脲素，在菌体表面产生“氨云”，中和胃酸，形成有利于幽门螺杆菌生存的微环境。幽门螺杆菌通过鞭毛运动穿入胃黏膜表面的稠厚黏液层，到达胃黏膜上皮细胞表面，依靠菌体表面的菌毛或黏附素黏附定植于细胞表面，克服宿主防御机制，生长繁殖。幽门螺杆菌可产生空泡毒素A（vacuolating cytotoxin antigen，VacA）和细胞毒素相关蛋白A（cytotoxin associated protein antigen，CagA）两种主要外毒素，VacA是一种相对分子质量为87 $\times 10^3$的蛋白质，可导致胃黏膜上皮细胞产生空泡样病变（见图10-3、图10-4），诱发人消化性溃疡，人十二指肠溃疡分离的菌株几乎都能产生VacA。CagA基因编码相对分子质量为128×10^3的蛋白质，分子流行病学调查显示$CagA^+$菌株感染人群明显增加了胃癌发生的危险性，1998年日本学者Watanable等报道$CagA^+$菌株感染的蒙古沙鼠发生胃癌。

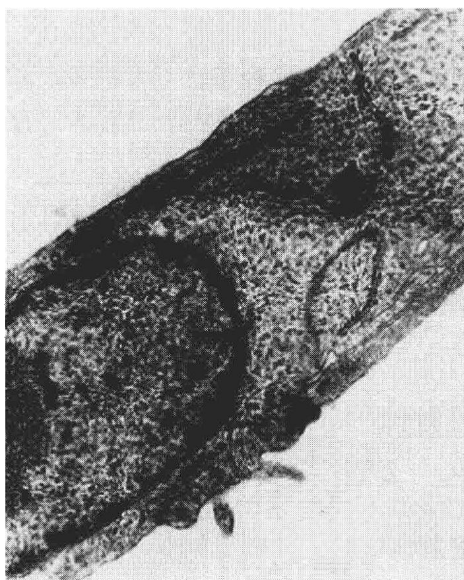


图10-3 原代正常胃黏膜上皮细胞胞内结构完整，胞质均质化，透射电镜 ×4500
（贾继辉提供）



图10-4 幽门螺杆菌与人胃黏膜上皮细胞相互作用后致细胞空泡病变，箭头所示，透射电镜 ×5000
（贾继辉提供）

幽门螺杆菌引起慢性胃炎和消化性溃疡的发病机制有两种学说：一种是“漏屋学说”，即幽门螺杆菌主要毒力因子VacA使胃黏膜上皮细胞空泡样变，脲素酶分解脲素产生的氨可加重空泡样变。幽门螺杆菌激活巨噬细胞释放的IL-8以及抗原抗体反应形成的免疫复合物趋化中性粒细胞引起炎症反应，引起胃黏膜屏障的破坏，酸腐蚀并进而产生溃疡。另一种是“胃泌素联系学说”，即幽门螺杆菌脲素酶分解脲素产氨导致局部微环境pH改变，阻断了胃液pH对胃窦G细胞胃泌素释放的反馈抑制机制，增强了胃泌素的释放，刺激胃酸胃蛋白酶的分泌，使胃黏膜损伤。根除幽门螺杆菌可使高胃泌素血症、高胃酸和高胃蛋白酶原血症恢复正常。

幽门螺杆菌诱发胃癌的可能机制为：幽门螺杆菌感染引起胃窦部黏膜组织损伤，使壁细胞数量减少，胃酸分泌相应减少，幽门螺杆菌脲素酶将胃内脲素分解为氨，中和胃酸，胃内pH升高，胃内高pH状态有利于细菌繁殖并促进致癌物N-亚硝基化合物的合成。幽门螺杆菌感染胃黏膜上皮细胞后激活炎症反应中多种细胞因子、自由基和一氧化氮释放，同时刺激中性粒细胞向炎症部位趋化，氧化爆发时产生大量活性氧，自由基、一氧化氮和活性氧可作用于基因组DNA，导致DNA分子断裂突变，促进细胞恶性转化。幽门螺杆菌CagA通过Ⅳ型分泌系统从细菌转运到胃黏膜上皮细胞胞

浆内面，在Src家族蛋白激酶的作用下，其C末端EPIYA模序中的酪氨酸残基发生磷酸化修饰，磷酸化的CagA特异性地结合包含SH2结构域的蛋白酪氨酸磷酸酶，通过Ras/Raf依赖性或非依赖性途径活化MEK/ERK信号途径，导致胃上皮细胞增殖异常，与细胞恶性转化有关。

幽门螺杆菌感染者的血液、胃液以及唾液中可测出特异性IgG、IgA，感染早期血清中可测得IgM抗体，然而临床观察发现由宿主产生的局部体液免疫物质并不能将该菌从体内清除。幽门螺杆菌感染也可以刺激局部的免疫细胞释放多种细胞因子，如Th1型T细胞产生IFN-γ、IL-2和IL-12等，TH2型T细胞产生IL-4、IL-5和IL-10，一般而言，Th1型细胞因子与抗感染免疫产生有关，Th2型细胞因子产生意味着感染的进展，研究发现幽门螺杆菌感染Th1细胞反应受抑制，而Th2细胞反应增强。这可能与该菌在体内长期生存，并致慢性炎症有关。

三、微生物学检查法

1. 直接涂片镜检　幽门螺杆菌为革兰染色阴性弯曲状或S形的细菌。

2. 快速脲素酶分解试验　将胃镜活检组织放入以酚红为指示剂的脲素培养基，如果培养基由黄变红则为阳性，说明胃黏膜活检组织中含有活的幽门螺杆菌。

3. 分离培养与鉴定　将待检的胃黏膜活检组织碾磨成匀浆，接种于含万古霉素、两性霉素B的选择性培养基，在微需氧环境中，37℃培养3天左右，幽门螺杆菌可形成微小菌落，通过直接涂片革兰染色形态学观察以及氧化酶、过氧化氢酶和脲素酶等生化反应进行鉴定。

4. 免疫学检测　用ELISA方法测血清中的IgG水平，或唾液中的IgA，也可以检测粪便中幽门螺杆菌抗原来判断感染。

5. 分子生物学检测　用16SrRNA寡核苷酸探针或用PCR识别幽门螺杆菌DNA。

四、防治原则

抗幽门螺杆菌治疗多采用在胶体铋剂或质子泵抑制剂的基础上加上两种抗生素的三联疗法，由于抗生素的广泛应用，目前该菌的耐药性呈上升趋势。疫苗的研制在幽门螺杆菌的防治中具有重要作用，目前基于该菌主要抗原成分脲素酶、VacA、CagA和黏附素的活载体疫苗和DNA疫苗的免疫保护作用在实验动物水平得到证实，部分正在开展临床试验，其确切免疫效果还需进一步观察。

第二节　弯曲菌属

弯曲菌属（Campylobacter）是一类呈弯曲状的革兰阴性细菌，对人致病的有空肠弯曲菌、胎儿弯曲菌和结肠弯曲菌等，其中空肠弯曲菌（C. jejuni）感染较常见，呈世界性分布，主要导致胃肠炎，也可引起肠道外感染。

一、生物学性状

空肠弯曲菌呈弧形，螺旋形或海鸥状，3～5个成串或单个排列，菌体两端尖，有极鞭毛，能做快速直线或螺旋状运动，无芽胞，无荚膜，革兰染色阴性。在5%O_2、10%CO_2和85%N_2的微需氧环境中，于血平板上初代分离可出现两种特征菌落：第一型菌落不溶血，灰色，扁平，湿润，有光泽，水滴状，边缘不规则，常沿接种线蔓延生长；第二型菌落也不溶血，常呈分散凸起的单个菌落，边缘整齐，半透明，有光泽，中心稍深，呈单个菌落生长。

生化反应不活泼，不发酵糖类，不液化明胶，不分解脲素，氧化酶阳性，马尿酸盐水解试验阳性，还原硝酸盐，产生硫化氢。

抵抗力较弱，易被干燥，直射日光及弱消毒剂所杀灭，培养物放于冰箱中很快死亡，56℃ 5分钟被杀死，干燥环境中仅存活3小时。

二、致病性与免疫性

空肠弯曲菌是牛、羊、狗等多种动物及禽类肠道的正常寄居菌，可通过生殖道或肠道的排泄物污染食品和饮水，人群普遍易感，5岁以下发病率最高，秋季多见，苍蝇起到重要媒介作用，亦可以经接触感染，感染的产妇可在分娩时传染给胎儿。

空肠弯曲菌致病性与侵袭力和毒素有关。该菌经口进入消化道，低于pH3.6的酸性溶液可抑杀该菌，因此，空腹时胃酸对其有一定杀灭作用，而饱餐或碱性食物有利于细菌突破胃屏障。进入肠腔的细菌在小肠上部借鞭毛侵袭运动到达肠黏膜上皮细胞表面，通过菌毛定植于细胞，细菌生长繁殖释放外毒素，细菌裂解出内毒素。空肠弯曲菌外毒素类似霍乱肠毒素，可以激活肠黏膜上皮细胞的腺苷酸环化酶，催化cAMP增加，黏膜细胞分泌功能亢进，导致腹泻。该菌的生长繁殖可导致局部黏膜充血水肿，甚至溃疡出血。空肠弯曲菌肠炎潜伏期一般为3～5天，发病时临床表现为痉挛性腹痛，腹泻，血便或果酱样便，量多，头痛，不适，发热。该病通常可自限，病程5～8天，如果免疫力低下则细菌随血流扩散，造成菌血症，甚至败血症，进而引起心、脑、肺、肝、泌尿道、关节等部位的损害。孕妇感染此菌可导致流产、早孕，而且可使新生儿受感染。有报道特定型别的空肠弯曲菌可诱发格林-巴利综合征，这可能与该菌表面的脂多糖与神经组织的糖脂或鞘磷脂蛋白之间存在交叉抗原，诱发免疫病理损伤有关。

感染空肠弯曲菌后2～4周可产生特异性IgM和IgG抗体，通过免疫调理和活化补体等作用增强吞噬细胞的吞噬杀菌功能。肠分泌液中的分泌型IgA对鞭毛和菌毛等侵袭因子具有拮抗作用。

三、微生物学检查法

1. 直接涂片镜检查　从排泄物中发现革兰染色阴性弧形或海鸥状弯曲菌，或用悬滴法发现呈鱼群样螺旋式运动的细菌。

2. 分离培养　待检的粪便和食物标本接种于含多黏菌素B和万古霉素的选择性培养基，37℃或42℃微需氧环境中培养48小时，挑选可疑菌落，用马脲酸水解试验、醋酸吲哚酚水解试验等生化反应进行鉴定。血液标本增菌后转种于选择分离培养基，以提高检出率。

3. 血清学检测　发病一周后，血清内出现抗体，主要为IgM，用间接凝集试验及间接免疫荧光试验等检测特异性抗体效价。如果血清抗体效价不高，须采取双份血清检测，以效价增高4倍作为诊断依据。

4. 分子生物学检测　PCR可快速检测粪便及血液等部位中的空肠弯曲菌特定DNA，用地高辛标记的空肠弯曲菌特异性寡核苷酸的斑点杂交试验也可用于感染快速诊断。

四、防治原则

空肠弯曲菌最重要的传染源是感染动物，因此，如何控制动物的感染，防止动物排泄物污染水源和食物至关重要，做好“三管”，即管水、管粪、管污染食物仍是防止空肠弯曲菌传播的有力措施。治疗可用红霉素，氨基糖苷类抗生素，青霉素等。目前正在研究的空肠弯曲菌减毒活菌苗及加热灭活菌苗，动物实验证实有一定的免疫保护性。

展　望

1982年Robin Warren和Barry Marshall发现了幽门螺杆菌，并证明该菌感染会导致慢性胃炎和消化性溃疡，此后的研究表明，超过90%的十二指肠溃疡和80%左右的胃溃疡，都是由幽门螺杆菌感染所致，抗生素治疗能够根治胃溃疡等疾病。幽门螺杆菌的发现革命性地改变了世人对胃病的认识，大幅度提高了胃溃疡等患者获得彻底治愈的机会，为改善人类生活质量作出了贡献，同时加

深了人类对慢性感染、炎症和癌症之间关系的认识。由此两位科学家赢取了2005年诺贝尔生理学或医学奖。

随着抗生素的广泛应用，幽门螺杆菌的耐药性呈上升趋势，因此如何有效根除幽门螺杆菌的感染为医学工作者提出了新的挑战。分子生物学技术和基因组学研究的发展，尤其是国际标准测序株H. pylori 26695基因组的完成，为深入研究幽门螺杆菌的致病机制以及耐药机制提供了有力的手段，由此推动了幽门螺杆菌保护性疫苗的发展，动物实验显示幽门螺杆菌单一抗原疫苗的保护率低，两种或两种以上幽门螺杆菌抗原组合的疫苗才具有理想的保护效果。随着高效无毒佐剂的筛选，免疫方式的完善以及全面有效免疫原的开发，高效人用幽门螺杆菌疫苗的生产将会成为现实。

空肠弯曲菌是全球性引起胃肠道感染的主要病原体之一，并与格林-巴利综合征及眼肌麻痹-共济失调-无反射综合征的发生密切相关，儿童发病率高，目前尚无有效疫苗进行预防，因此，进一步管理好家禽、家畜等肉类的加工运输以及奶类的消毒，切断传播途径将会有效减少空肠弯曲菌的感染。随着分子生物学和基因工程技术的发展，对其发病的分子机制的研究也将深入，为在分子水平探究空肠弯曲菌的致病机制以及研制高效无神经毒性的疫苗开辟了新的前景。

（贾继辉）

第十一章 分枝杆菌属

分枝杆菌属（*Mycobacterium*）是一类具有特殊生物学性状的微生物。菌体细长略弯曲、有时呈分枝状或丝状。细胞壁含有大量脂质，主要为分枝菌酸。这一特性与细菌的染色性、培养特性、致病性等密切相关，使细菌不易被一般染料着色，并能抵抗酸性乙醇的脱色，故这类细菌又称抗酸杆菌（acid-fast bacilli）。

在微生物分类中分枝杆菌属归属放线菌目、分枝杆菌科。可分为结核分枝杆菌复合群（*M.tuberculosis bacillus* complex）、麻风分枝杆菌（*M.leprae*）和非典型分枝杆菌或非结核分枝杆菌（atypical mycobacteria or nontuberculous mycobacteria）三类。结核分枝杆菌复合群包括结核分枝杆菌（*M.tuberculosis*）、牛分枝杆菌（*M.bovis*）等五个菌种。

分枝杆菌专性需氧，营养要求较高，抵抗力强，生长繁殖速度慢，多数为广泛分布于环境中的腐生菌，部分是非致病性正常菌群，或为机会致病菌。分枝杆菌中有多种对人和动物致病，其中结核分枝杆菌毒力强，是引起人类重大传染病——结核病的病原体。在自然条件下，结核分枝杆菌只对人致病，但牛分枝杆菌既可感染牛，也可感染人。其他分枝杆菌引起人和动物疾病一般发生于机体免疫力降低（immunocompromised）的情况下。分枝杆菌所致的疾病通常发展缓慢，呈慢性过程，并引起肉芽肿形成。其致病机制、病理损伤和机体康复过程复杂，与细菌特殊的生物学性状、机体免疫力和营养状况、环境卫生条件等有密切的关系。

Mycobacterium is a class of organisms with particular biological characteristics. Usually they appear a distinct morphology of slender and slightly curved, sometimes of mycelium-like form, under light microscope. Cell wall of the bacterium contains large amounts of lipids, mainly mycolic acid. This feature is exceptionally different from other genus of bacteria and it is closely related to chromaticity, culture, pathogenicity and immunity of the bacteria. The property makes bacteria difficult to be stained by conventional dyes and, if stained, the bacteria are resistant to decolorization of acid ethanol. Therefore mycobacteria are also known as *acid-fast bacilli* or *acid-fast bacteria.* So mycobacteria can be easily distinguished from other genus of bacteria by acid-fast test.

In mycobacteria, majority of them are nonpathogenic species widely distributed in environment but a wide range of species are pathogenic for humans and animals, including *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) and *Mycobacterium leprae*, and a large number of less pathogenic species collectively refered to as *atypical mycobacteria* or *nontuberculous mycobacteria*. Atypical mycobacteria become assuming increasing importance as disease agents in immunocompromised individuals, particularly those with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Diseases caused by mycobacteria usually develop slowly, follow a chronic course, and elicit a granulomatous response. The most important species MTB is the etiologic agent of tuberculosis. One of the oldest and most devastating of human afflictions, tuberculosis that ever caused several hundred millions of people died over recent centuries, remains a leading cause of infectious disease deaths worldwide today. The infectivity of the pathogenic species is quite high. So far one-third of the world population get infected with MTB that mainly distribute in poor

and developing countries, becoming a big problem on social public health and economy.

Human tuberculosis is divisible into primary and post or secondary forms with quite different pathological features. Primary infection occurs at first time when body never gets infected with tubercle bacilli before. MTB are transmitted from person to person mainly by small droplet nuclei contaminated with the bacteria in aerosol from patient respiratory tract. The small droplet containing living MTB may reach the alveoli where infection begins. However, the macrophages are not activated and are unable to destroy the intracellular organisms at first stage. In the period of time bacilli replicate within alveolar macrophages to produce the initial lesion. The initial lesion together with the enlarged hilar lymph node is called *primary complex*. This is typical syndrome of so referred to as *primary tuberculosis*. MTB are likely seeded by further lymphatic and blood dissemination into many organs and tissues, including other parts of the lung. Within about 10 days of infection clones of specific T lymphocytes are produced that activate macrophages and cause them to form granuloma around foci of infection. The center of the granuloma contains a mixture of necrotic tissue and dead macrophages which is called *caseation* from its cheese-like appearance and consistency (tubercle). In general, 90% of individuals who contracted MTB will be recovered from *primary infection* even without any symptomes owing to acquired cellular immunity. There are only evidences left in lung by calcified substances. However approximately 10% of those recovering from a primary infection develop clinical symptomes during their lifetime, which mostly results from reactivation of quiescent lesions, giving rise to *post-primary tuberculosis*. The *secondary infection* with MTB may also come from exogenous reinfection.

MTB is an exceptionally successful human pathogen. A major factor of this success is the ability of the bacteria to infect immunocompetent individuals and to evade eradication by both innate immunity and acquired immune response that includes production of IFN-r. Mycobacterial lipoproteins and other components of the bacterial cell wall, acting as agonists for TLR2, inhibit IFN-r induction of MHC class II that is necessary for antigen presenting to T lymphocyte. Cord factor is primarily associated with virulent strains of MTB. Mycolic acids are thought to be a significant determinant of virulence in MTB. They prevent attack of the mycobacteria by antimicrobial molecules as cationic proteins, lysozyme, and oxygen radicals in the phagocytic granule.

The microbiological diagnosis of MTB infection and related diseases covers detection of acid-fast bacilli in sputum via the Ziehl-Neelsen method, cultivation, PCR or nuclear acid hybridization and tuberculin skin test.

Because administration of a single drug often leads to the development of a bacterial population resistant to that drug, effective regimens for the treatment of tuberculosis must contain multiple drugs to which the organisms are susceptible. When two or more drugs are used simultaneously, each helps prevent the emergence of tubercle bacilli resistant to the others.

For prevention of MTB infection and disease dissemination, vaccination may be most available. A vaccine that has been widely used all over the world is called BCG.

第一节 结核分枝杆菌

结核分枝杆菌（*M.tuberculosis*），俗称结核杆菌（tubercle bacillus），是人类结核病病原体。人是结核分枝杆菌唯一的宿主。可侵犯全身各器官、组织，其中以肺结核（亦称痨病）最多见。结核是一种古老的疾病，全球广泛分布，是传染性疾病中的首位致死原因，也是单因素所致感染性疾病中死亡率最高的疾病。全世界约有1/3的人受到结核分枝杆菌感染，每年有1000万个新病例出现，

其中300万人死亡。

结核分枝杆菌引起的结核病严重危害人类健康和生命，人类与之进行斗争历经了一个多世纪。在世界各国的共同努力下，结核病曾大幅度降低。然而20世纪90年代以来，结核病发病率又不断在上升，成为首要的再现传染病，是全球尤为发展中国家最为严重的公共卫生问题。主要原因有：过去大量潜伏感染的人群的复发；人类免疫缺陷病流行使易感人群增加；细菌多重耐药使治疗难度增大；社会快速发展中的人群流动性和环境污染增加而使病原体传播增加。

一、生物学性状

形态结构与染色　结核分枝杆菌为细长略带弯曲的杆菌，直径约0.4μm，长1～4μm，呈单个或分枝状排列，常聚集成团。无鞭毛，不形成芽胞，有微荚膜。微荚膜可在电镜下观察到。微荚膜主要成分为多糖，部分为脂质和蛋白质。细胞壁含肽聚糖和大量脂质。脂质占细胞壁干重的60%，其中主要是分枝菌酸（mycolic acid）。最表层的微荚膜结构和细胞壁中包围在肽聚糖外层的这些特殊组分，赋予结核分枝杆菌特殊的生物学性状，与细菌的毒力密切相关，是致病性及免疫性的重要物质基础。由于细胞壁结构中大量脂质的存在，故一般染料难以渗入细胞壁和细胞内。因此，结核分枝杆菌虽为革兰染色阳性，但不易着色，一般用齐-尼（Ziehl-Neelsen）抗酸染色法染色。这是分枝杆菌与其他细菌的重要区别。结核分枝杆菌经5%苯酚复红加温染色后可着色，但不能被3%盐酸乙醇脱色，故菌体呈红色，即为抗酸染色阳性（图11-1）。而其他细菌则呈蓝色，为抗酸染色阴性。



图11-1　结核分枝杆菌
放大倍数×1000，染色方法Ziehl-Neelsen抗酸染色法

生长繁殖与培养　专性需氧。这一特性使典型的结核病变总是发生于通气最好的肺部上叶，也易于生长在肾脏，因这些部位氧含量较高。最适温度为37℃，低于30℃或高于42℃均不生长。最适pH 6.4～7.0。营养要求较高，生长缓慢，繁殖一代约需18小时。在宿主环境中生长繁殖速度更慢。分离培养常用罗氏（Lowenstein-Jensen）培养基，内含蛋黄、甘油、马铃薯、无机盐和孔雀绿等。一般培养2～4周可见粗糙型菌落生长。菌落表面干燥呈颗粒、结节或花菜状（图11-2），乳白色或米黄色，不透明。在液体培养基中结核分枝杆菌菌体可相互粘连，并按纵轴平行排列成绳索状（图11-3），且由于细菌含脂质量多，具疏水性，加之有需氧要求，故易形成皱褶的菌膜浮于液面。

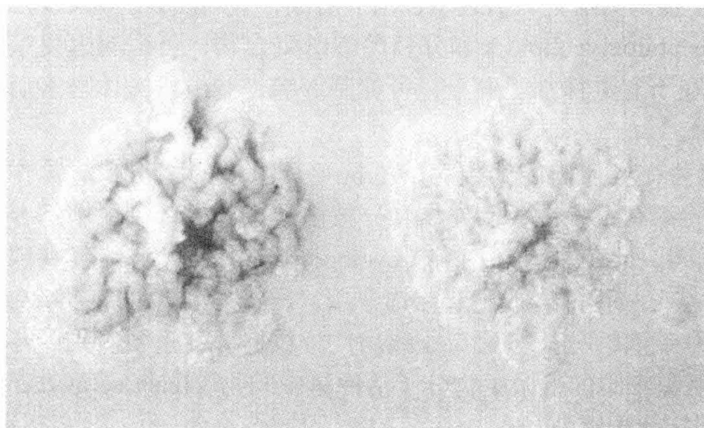


图11-2　吕氏培养基上生长的结核分枝杆菌菌落

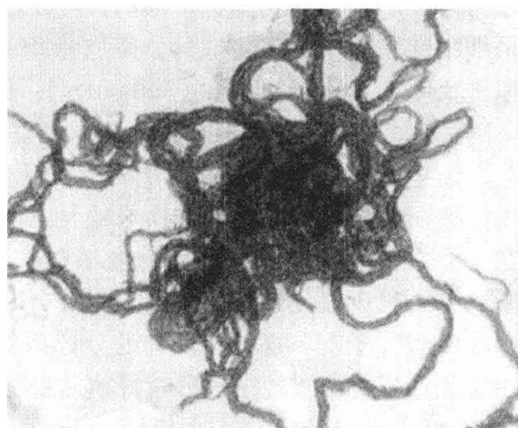


图11-3　结核分枝杆菌索状生长
Ziehl-Neelsen抗酸染色法×1000

若加Tween-80，则细菌分散，呈均匀生长，有利于药物敏感试验及动物接种。

生化反应 结核分枝杆菌与牛分枝杆菌均不发酵糖类。两者的区别在于前者可合成烟酸和还原硝酸盐，而后者不能。热触酶试验对区别结核分枝杆菌与非结核分枝杆菌有重要意义。结核分枝杆菌大多数该试验阴性，而非结核分枝杆菌则阳性。

抵抗力 结核分枝杆菌细胞壁中含有的大量脂质使细菌对理化因素有较强的抵抗力：①抗干燥：在干燥痰内可存活6～8个月；②抗酸碱：在6%H_2SO_4或4%NaOH中30分钟仍有活性。故常用酸碱处理标本可杀死杂菌和消化其黏稠物质；③抗染料：结核分枝杆菌对一定浓度的结晶紫或孔雀绿有抵抗力，加在培养基中可抑制杂菌生长。结核分枝杆菌对湿热紫外线及脂溶剂均敏感，在液体中加热62～63℃ 15分钟即被杀死，可用于牛奶消毒；直接日光照射2～7小时可以杀死，可用于结核病患者衣物等物品的消毒。

变异性 结核分枝杆菌可发生形态、菌落、毒力、免疫原性和耐药性等变异。在结核性脓疡、痰等临床标本中可见有非抗酸性革兰阳性颗粒，过去称为莫赫（Much）颗粒，现知此颗粒为L型。这只是形态的变异，基因没有改变，在体内或组织培养中能返回为抗酸性杆菌。在青霉素、溶菌酶等抗生素作用下，结核分枝杆菌可失去细胞壁结构而变为L型细菌。结核分枝杆菌在陈旧的病灶和培养物中形态往往不典型，可呈颗粒状或串珠状。

20世纪早期，法国人Calmette和Guerin将牛分枝杆菌在含甘油、胆汁、马铃薯的培养基中经13年230次培养传代获得一株减毒活菌苗，这种活菌苗可使人获得对结核的免疫力，从而被广泛用于免疫接种预防结核病。卡-介二氏发明的这种用人工方法使细菌降低毒力但保留免疫性用于预防结核病的活菌生物制剂称为卡介苗（Bacillus Calmette and Guerin， BCG）。卡介苗主要用于儿童的免疫接种，有效率达60%～80%。

结核分枝杆菌对药物的敏感性也在变异，异烟肼、链霉素、利福平等抗生素可发生耐药性变异，目前临床上已出现对多种抗结核药同时耐药的多重耐菌株（multidrug resistant strains， MDR株）。

二、致病性与免疫性

结核分枝杆菌不产生外毒素，也没有内毒素，其毒力主要表现为细菌在机体内的持续生存能力，包括逃避或抵抗免疫及药物的能力，而组织或器官的病理损伤主要与细菌大量繁殖与宿主细胞免疫之间的相互作用有关。

致病物质

1. 脂质 为菌细胞壁的主要组分，是主要毒力因子，与细菌的致病性密切相关。脂质主要成分有：①索状因子（cord factor）：为有毒菌株产生的6，6′-双分枝菌酸藻糖，因能使结核分枝杆菌在液体培养基中呈索状生长而得名。能破坏细胞线粒体膜，影响细胞呼吸，抑制白细胞游走和引起慢性肉芽肿；②磷脂（phosphatide）：能促使单核细胞增生，引起结核结节形成；③蜡质D（wax D）：是细胞壁脂质中的主要成分，是肽糖脂（peptidoglycolipid）和分枝菌酸的复合物，可引起迟发型超敏反应；④硫酸脑苷酯（sulfatides）：存在于有毒株细胞壁上，可抑制吞噬细胞中吞噬体与溶酶体的触合，使细菌能在吞噬细胞中长期存活。

这些脂质成分的关键作用是有助于细菌在机体内能够生存，抵抗免疫系统的杀伤和清除作用。然而分枝杆菌属中并非所有菌种的脂质都有致病性，例如尽管分枝菌酸在分枝杆菌属中都存在，但有毒的结核分枝杆菌分枝菌酸却不同。此菌具有环丙烷（cyclopropane）合成酶编码基因*pcaA*，一种甲基化转移酶基因。蛋白PcaA在分枝菌酸合成中起修饰作用，即将环丙烷残基连接在分枝菌酸分子上。这种被修饰的分枝菌酸是致病性分枝杆菌与非致病性分枝杆菌的重要区别。环丙烷化的分枝菌酸使结核分枝杆菌能抵抗巨噬细胞的抗微生物分子活性氧中间物（reactive oxygen intermediate， ROI）的杀灭作用，从而引起持续性感染。

2. 蛋白质 结核分枝杆菌具有多种蛋白成分，结核菌素（tuberculin）是其中的主要成分。结

核菌素本身无毒，但与蜡质D结合注入体内能诱发对结核菌素的迟发型超敏反应。结核分枝杆菌的蛋白质可刺激机体产生抗体，但这种抗体对机体无保护作用。结核分枝杆菌还可产生分枝菌生长素（mycobactin），为一种脂溶性的铁螯合物，对铁有亲和力，可作为铁载体将环境中的铁转运到菌体内。铁是结核分枝杆菌生长必要的微量元素，因其能与宿主机体竞争铁，故分枝菌生长素是一种毒力因子。

3. 其他物质　除上述成分外，结核分枝杆菌还具有多糖、结合蛋白等其他复合结构成分，与致病性和免疫性密切相关。多糖分布于荚膜和细胞壁中。荚膜多糖可与巨噬细胞表面的补体受体3（CR3）结合，有助细菌的黏附与侵入。进入细胞后，多糖又能抑制吞噬体与溶酶体的融合。结核分枝杆菌细胞壁含有的阿拉伯半乳聚糖和阿拉伯甘露聚糖，主要与类脂如蜡质D结合，能引起局部病灶的细胞浸润。脂阿拉伯甘露糖苷作为病原体相关分子模式与Toll样受体相互作用，通过炎性信号通路引起前炎细胞因子的产生。结核分枝杆菌的25kDa糖脂蛋白和19kDa脂蛋白均能抑制巨噬细胞MHC Ⅱ类分子的表达，对巨噬细胞加工、抗原递呈造成干扰。活的结核分枝杆菌也能削弱巨噬细胞的抗原加工能力和吞噬小体的成熟。

在结核分枝杆菌感染的第一阶段，不仅通过抑制吞噬体与溶酶体的融合来抵抗吞噬细胞的胞内杀伤作用，还能干扰巨噬细胞一氧化氮（ON^-）等抗微生物分子的产生，逃避反应性氮中间产物（RNI）如NOS^2的杀伤作用。结核分枝杆菌的某些抗杀伤基因已经鉴定出，如*noxR3*、*ahpC*和*glbN*表达产物能分解RNI，*msrA*表达产物能修复过氧化物诱导的核酸损伤。与急性感染不同，在持续感染阶段，宿主体内的结核分枝杆菌处于静息期（非细胞分裂期），对抗菌药物不敏感。通过基因敲除小鼠实验，已经鉴定了与结核分枝杆菌发生持续感染有关的20多个基因，其中包括参与宿主源性脂肪酸利用的异柠檬酸裂合酶编码基因*icl*，参与分枝菌酸合成的环丙烷合成酶编码基因*pcaA*，转录因子编码基因*mprA*、*sigH*和*whiB3*，以及与抗原性变异和毒力相关的基因。

所致疾病

1. 原发感染（primary infection）　指机体初次感染结核分枝杆菌，多发生于儿童。感染部位以肺部最为常见，通常发生于较低的肺叶段。结核分枝杆菌随空气细小微滴或尘埃经呼吸道进入肺泡，被肺泡巨噬细胞吞噬。由于细菌毒力因子的作用，巨噬细胞的吞噬杀伤功能被抑制，细菌在其中大量生长繁殖，导致巨噬细胞死亡、崩解。但这又引起更多的巨噬细胞聚集，再吞噬释出的细菌如此反复引起渗出性炎症病灶。原发感染主要发生于肺部最初感染的部位，为急性炎症反应，即为原发病灶。细菌可经淋巴管扩散到肺门淋巴结，引起淋巴管炎和淋巴结肿大。这些感染灶在X光下呈现哑铃状影，称为原发综合征（primary syndrome）。一旦细菌进入血液，会扩散到整个肺部或机体各处，导致粟粒性结核（miliary tuberculosis），或结核性脑膜炎。儿童往往免疫力低，此种情况可有发生。随着感染后机体抗结核特异性细胞免疫的建立，90%的人不表现症状，不经治疗原发病灶会纤维化或钙化，不治自愈。但在病灶内常有一定量的结核分枝杆菌长期潜伏，不断刺激机体产生免疫，同时潜伏的结核菌是以后复发感染或内源性感染的主要来源。原发感染中10%感染者发展为慢性结核病。

2. 原发后感染（post-primary infection）　指经历过初次感染后再发生的感染，亦称继发感染（secondary infection），主要发生于成人。呈慢性过程，病灶局限。大多为内源性感染，很少为外源性感染。内源性感染来源于过去感染后潜伏下来的细菌，在某些因素作用下，主要在机体免疫力减低的状态下，结核菌再度开始生长繁殖，称为再激活（reactivation）。由于机体已经具有特异性细胞免疫，对再次感染或外来入侵的结核菌有较强的局限能力，故原发后感染病灶局限，一般不累及附近的淋巴结，结核病理主要表现为慢性肉芽肿性炎症，称原发后结核（post-primary tuberculosis）。肉芽肿中心由巨细胞组成，其中含有结核分枝杆菌。中心的周围环绕一层上皮样细胞。这些巨细胞是结核病变的重要特征，称郎罕巨细胞（Langhans' giant cell）。上皮样细胞逐步形成纤维组织，包围着巨细胞组成的中心，使中心水分被吸收，形成干酪样坏死，结节最终被纤维化和

钙化。原发后结核的主要特征也是炎症反应。在某些情况下，巨噬细胞和T细胞无法控制结核分枝杆菌，结果，互相纠结产生的巨大结核使组织承受的损伤越来越多，出现大面积干酪样坏死。细胞死亡、组织崩解、液化，经气管释出，从而形成空洞。如果空洞使大血管破裂，可使患者大量咯血。

原发后感染常发生于肺尖部，也发生于那些含氧较丰富部位，例如肾、脑、骨，但主要见于机体免疫力受损或体弱者。

结核分枝杆菌在体内的扩散有两种机制：①直接扩散：结核结节可侵蚀支气管，借此细菌扩散至肺部其他部位。结节中心活的结核菌可经液化的干酪样物排出，经吞咽感染胃肠道；②通过血流扩散到其他器官。此种情况见于感染早期细胞免疫无力限制或在后期机体处于免疫功能低下的状况。空洞型肺结核是人类结核病的主要传染源（痰涂片抗酸染色阳性），但约20%痰涂片抗酸染色阴性者亦仍有传染性。

抗感染免疫与迟发型超敏反应

结核分枝杆菌属兼性胞内寄生菌，其抗感染免疫主要靠细胞免疫。抗原活化的$CD4^+$T细胞是抗结核分枝杆菌持续感染的主要免疫细胞。$CD4^+$T细胞受抗原刺激后释放细胞因子，激活巨噬细胞，最终依靠激活的巨噬细胞杀伤和清除结核分枝杆菌，病灶消失，机体康复。机体对结核分枝杆菌虽能产生抗体，但此抗体无保护作用。清除结核分枝杆菌与感染灶的大小和结构有关。激活的巨噬细胞向感染灶局部集聚形成肉芽肿。肉芽肿可限制和阻止细菌的进一步扩散。若肉芽肿在3mm以下，激活的巨噬细胞可穿入其中，将内部的细菌全部杀死。然而当肉芽肿中心坏死更多，形成干酪样变，并在周围形成纤维囊膜结构时，巨噬细胞无法进入杀死残存的细菌，这样病灶中的细菌逐渐转变成静息的休眠状态（dormant），即使在某些钙化灶仍可能有活菌存在，即为潜伏感染。但细菌能持续保持与病灶以外环境的联系，在若干年后，甚至数十年后，细菌可能重新开始大量繁殖、扩散，引起原发部位或其他部位的感染。这种情况多见于机体免疫力低下。AIDS患者的结核感染率比正常人结核感染率要高出400倍，这是免疫功能在抗结核感染中的作用最好的例证，因AIDS患者免疫功能被破坏。

在结核感染免疫机制中，可同时伴有特异性T细胞介导的迟发型超敏反应产生。这是$CD4^+$辅助T细胞介导的、巨噬细胞为效应细胞的针对细菌及其产物而产生的超常反应。迟发型超敏反应在结核感染中，既可有免疫作用，亦与致病作用密切相关。在多数情况下，淋巴细胞和巨噬细胞释放的TNF等细胞因子和蛋白水解酶等产物的直接作用，以及造成局部血管栓塞和缺血的间接作用，引起细胞坏死和干酪样病变，造成组织损伤和破坏，形成空洞。一旦空洞形成，结核分枝杆菌则易大量繁殖并播散。慢性持续性感染或结核病变引起细胞因子持续产生，特别是TNF-α。TNF-α与患者特征性的发热有关。然而在结核感染的大量人群中，大多能自然康复，仅较少比例表现疾病症状以及持续性感染，这与机体易感性有关。人体基因*nramp*决定人对结核的天然抗力，编码产生自然抗力相关性巨噬细胞蛋白（natural resistance-associated macropgage protein，Nramp），这种蛋白位于巨噬细胞的吞噬体膜上，对杀死吞噬体中的结核分枝杆菌有重要作用。许多结核病患者及家族患者*Nramp*基因有变异。

三、微生物学检查法

结核病的症状和体征往往不典型，但确诊结核分枝杆菌感染仍有赖于细菌学检查。近年来随着结核分枝杆菌耐药率的增加，抗结核治疗更依赖于药敏试验。标本的选择根据感染部位，可取痰、尿、粪、脑脊液或胸、腹水。如肺结核采取咳痰（最好取早晨第一次咳痰，挑取带血痰或脓痰）；肾或膀胱结核以无菌导尿或取中段尿液；肠结核取粪便；结核性脑膜炎取脑脊液（CSF）；脓胸、胸膜炎、腹膜炎或骨髓结核等则穿刺取脓汁或分泌物。待检标本一般应先集菌后检查。痰、支气管灌洗液、尿、粪等污染标本需经4%NaOH处理，再离心沉淀，取沉淀物做涂片染色镜检。若需进一步做培养或动物接种，应先用酸中和后再离心沉淀。

直接涂片　标本直接涂片或集菌后涂片，用抗酸染色。如果找到有抗酸阳性菌，即可初步诊断。欲提高镜检的敏感性，可用金胺染色，在荧光显微镜下结核分枝杆菌在暗的背景上呈现金黄色的荧光，检出阳性率可提高许多。浓缩集菌先集菌后检查，可提高检出率，因痰每毫升含菌量10000个以上才能直接涂片检出。培养与动物试验也必须在集菌过程中先除去杂菌。脑脊液与胸、腹水无杂菌，可直接离心沉淀集菌；痰、尿、粪等污染标本需经4%NaOH、3%HCl或6%H_2SO_4处理15分钟，再离心沉淀。直接涂片用抗酸染色法检查，对不同部位的标本应区别对待和分析。如脑脊液、胸积液等属无菌标本，正常人痰液没有抗酸性细菌，因此这些标本查见抗酸染色阳性菌有诊断价值。然而泌尿系标本则应考虑到存在耻垢杆菌（正常菌群）污染的可能。

此外形态学检查应注意结核分枝杆菌的L型变异问题。临床各种类型的肺结核患者中40%左右分离出L型。经治疗的结核病患者细菌型消失，而L型常持续存在。已发现在检测不出细菌型的肺空洞患者痰中，8%左右仍可检出L型。故有人建议多次检出的L型亦作为结核病活动判断标准之一，细菌型与L型均转阴才能作为痰阴性。

分离培养　将集菌后的样本接种于固体培养基，于37℃培养，一般2～4周可出现肉眼可见菌落。由于结核分枝杆菌生长缓慢，如果在常规时间尚未见菌落产生，培养需要延续至6～8周方可明确为培养阴性。液体培养时将集菌样本滴加于含血清的培养液，或涂于玻片再将玻片浸于培养液中，可于1周内在管底看到有颗粒生长。取沉淀物作涂片或取出玻片染色镜检，可加速获得结果。并可进一步作生化反应等鉴定和药敏试验。由于结核菌常有L型存在，在结核病临床标本培养时，应加作L型的培养，细菌型与L型均转阴方能认为结核分枝杆菌培养阴性。

动物实验　常用的动物为豚鼠。豚鼠对结核分枝杆菌敏感，可用于结核分枝杆菌的分离培养、分离培养物的鉴定和细菌毒力的测定。取0.1ml浓缩集菌处理的样本注射于豚鼠腹股沟皮下，饲养观察3～4周后若局部淋巴结肿大，结核菌素试验阳转，即可进行病理解剖，观察肺、肝、淋巴结等脏器有无结核病变，并涂片作形态学检查或培养等。若6～8周仍不见发病，也应进行上述病理解剖检查。

结核菌素皮肤试验　结核菌素皮肤实验（tuberculin skin test，TST）是指用已知的结合菌素抗原测定机体是否存在对该抗原有迟发型超敏反应的一种皮肤试验，以辅助诊断机体是否有过结核菌感染或现有活动性结核。原理是注入特异抗原后，结核感染机体的致敏T细胞集聚于抗原部位，在局部形成以T细胞浸润为特征的细胞免疫反应。通常在感染结核分枝杆菌后4～6周检测出。目前使用的是结核菌素是纯蛋白衍化物（purified protein derivative，PPD），此制剂是用三氯醋酸沉淀后的结核菌素蛋白。PPD有两种，即结核分枝杆菌制成的PPD-C和卡介苗制成的BCG-PPD。常用Mantoux法，分别取两种PPD5个单位注射于两前臂皮内，48～72小时局部皮肤出现红肿、硬结（induration），硬结大于5mm为阳性，≥15mm为强阳性，有助于临床诊断。若PPD-C侧皮肤红肿大于BCG-PPD侧为感染。反之，可能系接种卡介苗。阳性反应表明已感染过结核分枝杆菌，但不一定有结核病，因接种卡介苗者也呈阳性，或机体为潜伏感染状态。强阳性者可能有活动性感染，应进一步追查病灶。阴性反应表明未感染过结核分枝杆菌，但应考虑排除以下假阴性反应的情况：①感染初期；②严重结核病患者；③细胞免疫功能降低者：伴有麻疹等其他传染病、艾滋病、肿瘤或使用免疫抑制剂等。结核菌素试验可应用于结核分枝杆菌感染的流行病学调查、结核的辅助诊断和疗效的判断以及卡介苗接种效果的检测。

快速诊断　一般涂片检查敏感性较低，而分离培养又需时较长。为此，可应用PCR技术对结核分枝杆菌进行鉴定，不仅敏感性较高，而且只需1～2天即出结果，可达到快速诊断的目的。但操作中需防止器材的污染，以免出现假阳性。例如，绝大多数结核分枝杆菌DNA中含有1～20个拷贝的插入序列（IS6110），可用PCR的方法对其进行检测，目前常用于流行病学调查。在快速诊断中，近年来许多快速检测耐药性，包括多重耐药株的检测方法都有不少报道。采用金胺染色进行荧光显微镜检查也可作出快速诊断。

四、防治原则

治疗 抗结核治疗的原则是早期、联合、规则、足量、全程用药，尤以联合和规则用药为重要。传统以链霉素、异烟肼、对氨水杨酸钠为第一线药物，其他抗结核药列为第二线。新药主要有利福霉素类和喹诺酮类。对严重感染者目前倾向于用新药与利福平及异烟肼合用。各种抗结核药物如联合应用，有协同作用，可有效降低耐药性的产生，减少毒性。目前，国内外均推行三药联合方案，即以异烟肼、利福平和吡嗪酰胺为主要治疗药物联合应用。患者体内分离的结核分枝杆菌在治疗过程中应做药敏试验，以指导临床治疗。在治疗策略上，不仅活动性结核要及时治疗，对潜伏感染的治疗在控制传染源上有重要意义。抗结核治疗的疗程一般是6～18个月，一般肺结核病不少于6个月。

预防与控制 除对结核病患者早期发现、隔离和治疗外，卡介苗接种使机体产生主动免疫是预防结核病的有效措施。据统计，未接种组的发病率比接种组高4～5倍。婴儿因免疫力低，为卡介苗接种的主要对象。目前，我国把儿童注射卡介苗预防结核病纳入儿童计划免疫的项目，规定新生儿出生后即接种卡介苗，7岁时复种，在农村12岁时再复种一次。6个月以内健康婴儿可直接接种。由于近10余年来结核的发病率与死亡率在世界各地均明显增加，且耐药菌特别是多重耐菌的增多，WHO提出控制结核病的主要措施为：政府行为推行发现和治疗痰菌阳性患者（免费治疗），以及对新生儿接种卡介苗，以控制结核病的传播与流行。卡介苗对不同人群的保护性效率差异很大。接种后免疫力维持6～10年，故6年后需要复种一次。卡介苗是活菌苗，活菌的数量直接影响免疫效果，故目前已有冻干菌苗供应。核糖体RNA（rRNA）疫苗、基因工程疫苗、多肽抗原疫苗等尚在试验阶段，未应用于人体。DNA疫苗亦在研究中。

第二节 麻风分枝杆菌

麻风分枝杆菌（*M.leprae*）是麻风病的病原菌。麻风是一种慢性传染病，流行广泛。目前全球有病例1200万，主要分布在亚洲、非洲和拉丁美洲。我国在解放前流行很严重，估计有50万患者，主要分布在东南沿海和长江流域及云南、贵州、四川等省。解放后经政府推动的积极防治，目前发病率和患病率已大幅度降低，近年来已稳定在2000例左右。

一、生物学性状

麻风分枝杆菌的形态、染色与结核分枝杆菌相似。细长、略带弯曲，常呈束状排列。革兰染色与抗酸性染色均为阳性。经治疗可见菌体断裂成颗粒状。可能为L型变异。未经彻底治愈可导致复发。麻风分枝杆菌是一种典型的胞内寄生菌，患者渗出物标本涂片中可见大量麻风分枝杆菌存在于细胞内。这种细胞胞质呈泡沫状，称麻风细胞（leprosy cell），这对区别结核分枝杆菌有重要意义（图11-4）。

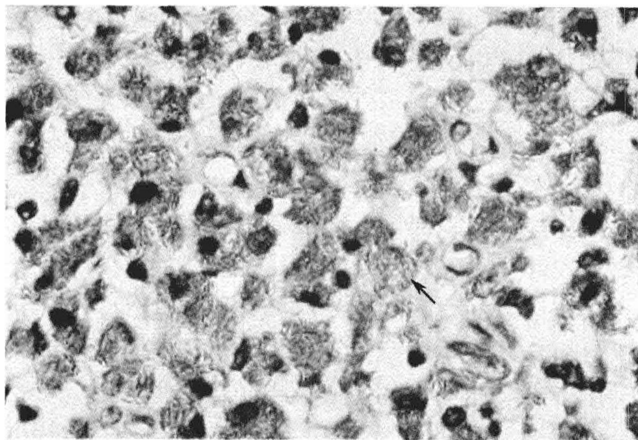


图11-4 麻风分枝杆菌

标本来源麻风病理组织切片×1000，箭头所指为细胞内寄生的麻风分枝杆菌

麻风分枝杆菌在体外人工培养至今仍未获成功。有人将麻风分枝杆菌注入小鼠足垫，并降低足垫温度，可见有明显麻风分枝杆菌生长并能传代，可用于药物筛选和免疫防治研究。

二、致病性与免疫性

以前一直认为麻风分枝杆菌主要通过破损的皮肤、黏膜进入人体。近年来发现未经治疗的瘤型麻风病患者早期鼻黏膜分泌物内含大量麻风分枝杆菌,因此,呼吸道是一重要传播途径。此外,痰、汗、乳汁、精液和阴道分泌物中均可有麻风分枝杆菌排出。但人对麻风分枝杆菌的抵抗力较强，主要是细胞免疫，流行地区常呈亚临床感染而不发病。和结核相似，α/β 和 γ/δ T细胞起重要作用，可在巨噬细胞中逃离吞噬体,在细胞质中保持生长较长时间,以免受IFN-γ 活化巨噬细胞溶酶体的作用。但其靶细胞谱广，有时不受巨噬细胞的杀伤。此病根据机体的免疫状态、病理变化和临床表现可将大多数患者分为瘤型和结核样型两个型，有少数患者处于两型之间，也可分为两个类，即界线类与未定类。此两类均可向两个型转化。在我国以结核样型与未定类较多，瘤型较少。

瘤型（lepromatous type）　此型麻风患者细胞免疫缺损，巨噬细胞功能低下，故麻风菌素试验阴性。麻风分枝杆菌主要侵犯皮肤、黏膜，鼻黏膜涂片中可见细胞内外有大量抗酸性细菌，传染性强，为开放性麻风。若不治疗，将逐渐恶化，累及神经系统。患者的血清内有大量自身抗体，与受损组织释放的抗原结合，形成免疫复合物，沉淀在皮肤或黏膜下，形成红斑和结节，称为麻风结节（leproma）。是麻风的典型病灶，常发生于面部或肢体，面部结节融合可呈“狮面”状。

结核样型（tuberculoid type）　此型患者细胞免疫较强，麻风菌素试验阳性。病变早期在小血管周围可见有淋巴细胞浸润，以后可有上皮样细胞与单核巨噬细胞浸润。细胞内很少有麻风分枝杆菌，传染性小，属闭锁性麻风。病变多发生于皮肤与外周神经，可自行消退。此型稳定，极少演变为瘤型，故亦称良性麻风。

界线类（borderline form）　此型实际上是一个过渡阶段，兼有瘤型与结核样型的特点，但程度可以不同，能向两型转化。大多数患者麻风菌素试验阴性，但也有阳性。病变部位可找到含菌的麻风细胞。

未定类（indeterminate form）　属麻风病的前期病变，病灶中很少能找到麻风分枝杆菌。麻风菌素试验大多阳性，大多数病例最后转变为结核样型。

麻风病情一般发展缓慢，但有时也可急性或亚急性发作，称为麻风反应。这与超敏反应有关，由气候、生理变化（月经、妊娠、分娩）、其他感染、用药（如砜类抗麻风药）等诱导发生。反应有两型：Ⅰ型为细胞免疫反应，表现为皮肤红肿、浸润、局部发热，受累神经干粗大、有触痛；Ⅱ型为免疫复合物反应,表现为皮肤结节性红斑或坏死红斑,头痛、发热、全身淋巴结肿大、关节肿痛。

三、微生物学检查法

主要是标本涂片染色镜检或病理组织切片检查，麻风菌素试验对诊断无意义。

形态学检查　显微镜检查可从患者鼻黏膜或皮损处取材，用抗酸性染色后检查。一般瘤型和界线类患者标本中可找到有抗酸染色阳性的麻风分枝杆菌,细胞内找到抗酸阳性菌有重要的诊断意义。为了提高检查的阳性率，也可用金胺染色后以荧光显微镜检查，或用免疫荧光法检查。

麻风菌素试验（lepromin test）　是一种用麻风菌素测定机体对麻风分枝杆菌是否存在Ⅳ型超敏反应的皮肤试验。因其抗原与结核分枝杆菌有交叉反应，故对诊断麻风病没有重要意义，但可用于麻风的分型和判断。方法是取麻风菌素（lepromin）0.1ml注射于前臂皮内，48 ~ 72小时后局部红肿，直径 > 5mm为阳性。反应有两种：一种为早期反应，出现于注射后3 ~ 4天，表示患者对麻风菌素过敏；另一种为后期反应，出现于注射后3 ~ 4周，表示患者对麻风有免疫。

四、防治原则

预防　因麻风分枝杆菌不能大规模人工培养制成菌苗，故目前尚无特异性预防方法。由于麻风分枝杆菌和结核分枝杆菌有共同抗原，曾试用卡介苗来预防麻风取得一定效果。该病防治特别要对

密切接触者作定期检查。早发现，早治疗。

治疗 目前主要用砜类、利福平、丙硫异烟胺等。目前主张采用2～3种药联合治疗，以防耐药性的产生。麻风分枝杆菌感染后经治疗可出现持久菌，又称休眠菌或顽固菌，系指多菌的患者在有效浓度药物的杀菌作用下，仍然存在并对该药完全敏感的麻风分枝杆菌。持久菌往往是皮肤查菌阴转后停止治疗，而晚期又复发的主要原因。

第三节 其他分枝杆菌

除结核分枝杆菌、麻风分枝杆菌是毒力强的致病菌外，其他分枝杆菌对人大多为机会致病菌，主要有牛分枝杆菌和非典型分枝杆菌。

一、牛分枝杆菌

牛分枝杆菌（*Mycobacterium bovis*）是引起牛结核病的病原体。其生物学性状、化学组成和毒力与结核分枝杆菌相似，引起的牛结核病常见为牛肠炎或溃疡性病变、腹膜生长大量结核结节、乳牛出现慢性消瘦等。人可因密切接触或食入未经消毒的污染有牛分枝杆菌的牛乳而被感染，引起人畜共患病。但一般不引起人肺部感染，主要引起淋巴结感染和髋关节、膝关节及脊椎骨髓病变。有时牛分枝杆菌也可经呼吸道进入，引起与结核分枝杆菌一样的感染，难以区别。预防牛结核分枝杆菌对人的感染关键是控制好作为传染源的被感染的牛，并严格进行牛奶的消毒和管理。

二、非典型分枝杆菌

非典型分枝杆菌（atypical mycobacteria），亦称非结核分枝杆菌（nontuberculous mycobacteria），是指分枝杆菌属中除结核分枝杆菌、牛分枝杆菌和麻风分枝杆菌以外的分枝杆菌总称。此菌广泛分布于自然界，菌种较多，多数无致病性，其中十余种可引起结核样病变。非典型分枝杆菌感染在世界不同地区差别较大，多发生于结核病显著降低的地区，例如美国。近年来在我国其感染率也有上升的趋势。

1959年Runyon根据产色、生长速度和细胞化学反应等主要特征将非典型分枝杆菌分为4群，即光产色菌（Runyon Ⅰ群）、暗产色菌（Runyon Ⅱ群）、不产色菌（Runyon Ⅲ群）和迅速生长菌（Runyon Ⅳ群）。1982年Wayne根据对人和动物的致病性以及生物学性状的相似性提出非典型分枝杆菌的复合菌群分类，包括：①鸟-胞内分枝杆菌复合群（*M.avium-intracellulare* complex）：有鸟分枝杆菌、胞内分枝杆菌、瘰疬分枝杆菌和副结核分枝杆菌等；②戈登分枝杆菌复合群（*M.gordonae* complex）：有戈登分枝杆菌、亚洲分枝杆菌、苏尔加分枝杆菌，多属暗产色菌；③堪萨斯分枝杆菌复合群（*M.Kansasii* complex）目前有堪萨斯分枝杆菌和胃分枝杆菌；④地分枝杆菌复合群（*M.terrae* complex）包括地分枝杆菌、不产色分枝杆菌和次要分枝杆菌；⑤偶发分枝杆菌复合群（*M.fortuitum* complex）。

与结核分枝杆菌比较，非典型分枝杆菌主要特点有：①大多为环境中的腐生菌，部分可作为机会致病菌，引起人或动物致病。毒力较低，作为机会性致病菌引起机会感染，并常为继发性的，患者大多有慢性基础疾病或免疫损害；多继发于支气管扩张、矽肺和肺结核，是人类免疫缺陷病毒（HIV）感染或获得性免疫缺陷综合征（AIDS）的常见并发症，也可以是因消毒不严而引发的医院内感染；②生长温度不如结核分枝杆菌严格；③对酸碱比较敏感；④对现有抗结核药物大多耐药，易成为慢性排菌或难治性病例，可引起慢性肺病、淋巴结炎、软组织感染等。

展 望

自1998年全球第一个结核分枝杆菌标准株H37Rv的全基因图谱完成以来，结核病的病原学、

发病机制、诊断与预防以及分子流行病学等研究取得许多进展，对这种微生物特殊的感染生物学现象也不断获得新的认识。然而由于结核分枝杆菌特有的生物学性状以及复杂的与宿主的相互关系，到目前为止，在致病机制研究和疾病防治上仍未取得突破性进展。随着相关学科新理论和新技术的不断发展，对结核分枝杆菌及结核病的研究仍在不断发展和深入。

感染生物学研究　结核分枝杆菌是迄今所见的能够在宿主无菌的组织中生存的最成功的事例。控制和消灭结核病最根本的是最终将结核分枝杆菌从机体内清除和阻止再感染。解决这一问题有必要深入揭示和了解细菌在体内的生物学行为，包括休眠、潜伏感染、逃避免疫的机制和抵抗药物的能力等。近来动物实验发现，结核分枝杆菌可在肺部原发感染时引起的肉芽肿中心形成有组织的由基因控制的生物被膜。这种生物被膜是由微菌落组成的一种薄膜状结构。微菌落中庇护着具有耐药性的菌细胞，这样耐药菌在生物被膜的保护下而生存下来。分枝菌酸可能在生物被膜结构中起重要作用。结核分枝杆菌生物被膜的发现是该菌耐药性生物学行为研究的重要进展，为缩短结核病抗生素疗程研究开辟了新的方向。结核分枝杆菌在体内的休眠静息状态或潜伏感染和慢性持续性感染都是一种复杂的感染生物学现象。

微生物学诊断研究　尽管全球大量人群感染结核分枝杆菌，但对结核感染的总检出率低，这与传统方法存在的不足有关。其快速鉴定有赖于分子生物学方法。核酸探针杂交技术在结核分枝杆菌的分子生物学研究、细菌分类与鉴定、流行病学调查等方面有重要作用。cDNA探针和寡核苷酸探针的商品试剂盒已广泛用于临床诊断结核病、鸟分枝杆菌病和胞内分枝杆菌病。全染色体DNA探针、克隆DNA探针和DNA片段探针也开始应用。长期以来，结核菌素皮肤试验（TST）一直是用于检测潜伏结核感染（latent tuberculosis infection，LTBI）唯一的方法。尽管临床实践证明TST有一定使用价值，但只能作参考。近年发展起来的一新方法有望替代TST，即基于T细胞的IFN-γ测定。该方法已在美国开始应用。其原理是用结核分枝杆菌特异抗原刺激从患者分离获得的T细胞，通过测定其释放的IFN-γ水平来判断细胞免疫反应。用于刺激T细胞的特异抗原基因位于结核分枝杆菌基因组中的RD1区，编码的抗原为ESAT-6 和CFP-10，特异性优于PPD。新近出现的核酸扩增试验（NAA test）可直接从痰液检测结核分枝杆菌复合群特异基因。

机体易感性研究　结核感染率高但发病率却不高，这与个体的易感性有关。目前认为结核病的个体易感性至少与以下几种基因有关：①*nrampl*基因（自然抗力相关性巨噬细胞蛋白）：影响巨噬细胞的激活途径，包括MHC-Ⅱ等分子的表达；②*mbp*（甘露醇结合蛋白）基因：可协助细菌在巨噬细胞中扩散；③*nos2*（一氧化氮合成酶）基因：许多抗结核免疫途径最终都涉及到*nos2*基因，*nos2*可能是结核病的关键易感基因。结核分枝杆菌的易感性是由多种基因共同决定的，涉及病原体与宿主相互作用等多种因素。现有的研究多数仅涉及单个或几个基因，并不能完全说明结核病的易感性，因此，有必要对多个基因进行系统性和综合性研究，以阐明宿主个体遗传因素的作用。

耐药性研究　①耐药性：利用基因组学、蛋白组学和生物信息学等分子生物技术研究结核分枝杆菌，几种主要化疗药物耐药性的分子机制已得到阐明，相关基因主要有：耐利福平基因*rpoB*，*rpoB*突变已作为结核分枝杆菌耐RFP的遗传标志；耐链霉素基因*rpsL*；耐乙胺丁醇基因*emb*（阿拉伯糖基转移酶）；耐吡嗪酰胺基因*pnc*；耐喹诺酮基因*gyrA*；②耐药基因快速检测技术：主要有分子信标（molecular beacons），可快速检测突变耐药基因；线性探针法（line probe assay，LiPA），用PCR和反向杂交快速检测耐药基因；噬菌体相关测定技术测定耐药基因；③新药物靶点研究：近来发现一些具有药靶价值的有：甲基转移酶（PcaA）、酮乙基-酰基载体蛋白合成酶、酰基-AMP连接酶（Fad32），这些酶参与结核分枝杆菌的分枝菌酸合成。生物被膜也有望成为重要的药物靶点之一。

（叶嗣颖）

第十二章 厌氧性细菌

厌氧性细菌（anaerobic bacteria）是一群必须在无游离氧的环境中才能生长繁殖的细菌，简称厌氧菌。根据能否形成芽胞，可将厌氧菌分为厌氧芽胞杆菌和无芽胞厌氧菌两大类。厌氧芽胞杆菌属于梭菌属，临床常见的有破伤风梭菌、产气荚膜梭菌、肉毒梭菌及艰难梭菌，主要引起外源性感染。无芽胞厌氧菌为多个属的球菌和杆菌，大多为人体正常菌群的成员，主要引起内源性感染。近年来，随着厌氧分离培养技术的改进，厌氧菌在临床标本中的检出率逐年上升，分离的种类也逐渐增多。随着分子生物学技术的快速发展，对其致病机制的研究亦日趋深入。

Anaerobic bacteria, also called anaerobes, are a heterogeneous group of bacteria that do not use free oxygen for growth. They are found throughout the human body-on the skin, on mucosal surface, and in high concentration in the mouth and gastrointestinal tract-as part of the normal flora. These bacteria can be classified into two categories: spore-forming *Clostridia* and non-spore-forming anaerobes. Clinically severe infections caused by anaerobes are common and often found combined with infection of other facultative anaerobes and aerobes.

Some of the *Clostridia* are well known as human pathogens with clear pathogenesis, such as *C.tetani*, *C.perfringens*, *C.botulinum* and *C.difficile*. They cause exogenous infections of tetanus, gas gangrene, botulism besides antibiotic-associated diarrhea or pseudomembranous colitis.

Tetanus spores are widespread in soil and can enter wounds by contaminated materials. If necrotic tissue or the presence of a foreign body permits local and anaerobic bacteria growth, *C.tetani* will produce two toxins: tetanolysin and tetanospasmin. The tetanospasmin is transmitted to the CNS through peripheral nerve axons, where it binds to neurons and blocks the release of inhibitory mediators in spinal synapses, causing over activity of motor neurons. Clinical features of tetanus include muscle rigidity and spasms, such as lockjaw, dysphagia, neck stiffness and opisthotonos, leading to severe injury, respiratory failure and eventually death.

C. perfringens grows rapidly in tissues and in culture, which is haemolytic and metabolically active. The production of four major lethal toxins of *C.perfringens* (α, β, ε and ι toxins) is used to subdivide the isolated strains into five types (A to E), involved in a variety of human diseases. Type A *C. perfringens* is the common cause of both gas gangrene and food poisoning. Clinical therapy of gas gangrene includes surgical removal of the necrotic tissues and administration of penicillin.

Spores of *C. botulinum* are widespread in soil and contaminated vegetables. The spore can germinate in an anaerobic environment and then produce toxin. Botulinus neurotoxin is known as the most potent toxin and it acts on peripheral nerve synapses by blocking the release of acetylcholine, causing the clinical features of botulism including weakness and paralysis. Botulism should be treated with antitoxin (for type A, B and E toxins) as soon as possible coupled with respiratory support.

Non- spore-forming anaerobes, including gram-positive cocci and gram-negative cocci and bacilli are members of the indigenous flora in humans and animals. They are widely colonized on the skin, in the

mouth, in the intestinal tract and genitourinary tract, and they are predominant bacteria at each of these sites, which may cause endogenous infections, such as peritonitis, intra-abdominal abscess, respiratory tract infections and female genital tract infections. Most common anaerobes isolated from specimens are members of the *B. fragilis* group in clinical practice.

第一节　厌氧芽胞梭菌属

厌氧芽胞梭菌属（*Clostridium*）的细菌，是一群革兰染色呈阳性、能形成芽胞的大杆菌，由于芽胞的直径比菌体宽，使菌体一端膨大呈梭状，故名。不同细菌的芽胞在菌体中的位置及其形态不同，有助于对菌种的鉴别。该属菌目前发现的有157个种，主要分布于土壤、人和动物肠道，多数为腐生菌，少数为病原菌，如破伤风梭菌、产气荚膜梭菌、肉毒梭菌等，可导致人类的破伤风、气性坏疽和肉毒中毒等严重疾病。

一、破伤风梭菌

破伤风梭菌（*C.tetani*）是破伤风病的病原菌。该菌大量存在于土壤、人和动物肠道内。当人体受到外伤，创口被污染；分娩时使用不洁器械断脐接生或脐部消毒不严格；本菌可侵入局部创面引起外源性感染。

（一）生物学性状

破伤风梭菌为菌体细长的革兰阳性杆菌，长2～18μm，宽0.5～1.7μm，有周鞭毛，无荚膜。芽胞呈正圆形，其直径比菌体宽，位于菌体一端，使带有芽胞的细菌呈鼓槌状，此为本菌的典型特征（图12-1）。培养时严格厌氧，在血平板上，37℃培养48小时后可见薄膜状爬行生长，伴β溶血。菌落周边疏松，似羽毛状突起，边缘不整齐呈羊齿状。不发酵糖类，不分解蛋白质。其芽胞在100℃ 1小时可被破坏，在干燥的土壤和尘埃中可存活数十年。

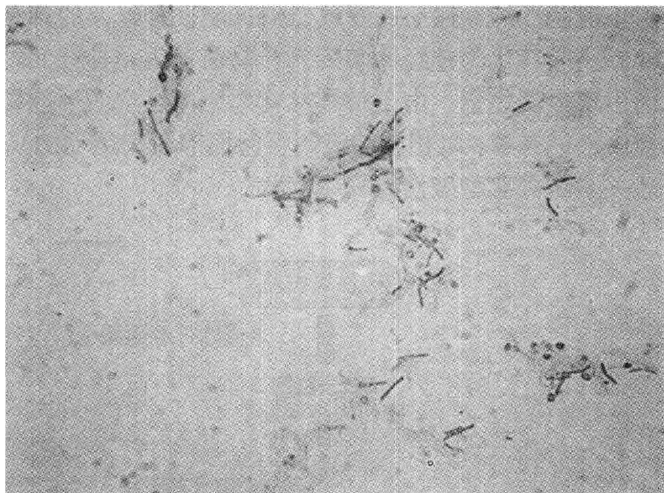


图12-1　破伤风梭菌（光镜×1000，杨致邦提供）

（二）致病性与免疫性

1. 感染条件　破伤风梭菌由伤口侵入人体，其感染的重要条件是局部形成厌氧微环境：伤口窄而深，有泥土或异物污染；大面积创伤，坏死组织多，局部组织缺血、缺氧；同时伴有需氧菌或兼性厌氧菌混合感染；均易造成伤口局部的厌氧微环境。其芽胞在局部发芽，细菌生长繁殖，释放毒素，引起破伤风病。破伤风梭菌无侵袭力，仅在局部生长繁殖，其致病主要依赖于细菌所产生的毒素。

2. 致病物质　破伤风梭菌能产生破伤风痉挛毒素（tetanospasmin）和破伤风溶血毒素（tetanolysin）两种外毒素。破伤风痉挛毒素由质粒编码，属神经毒素（neurotoxin），对脊髓前角神经细胞和脑干神经细胞有高度的亲和力，是引起破伤风的主要致病物质。该毒素毒性极强，仅次于肉毒毒素，经腹腔注入小鼠的半数致死量（LD_{50}）为0.015ng，对人的致死量小于1μg；其化学本质为蛋白质，不耐热，65℃加热30分钟即被破坏；可被肠道中存在的蛋白酶所破坏。毒素主要经局部神经细胞扩散，也可经淋巴、血液到达中枢神经系统而致病。破伤风溶血毒素对氧敏感，其功能和抗原性与链球菌溶血素"O"相似，但在破伤风病中的致病作用尚不清楚。

3. 破伤风痉挛毒素的致病机制 破伤风梭菌最初合成的破伤风痉挛毒素为一条相对分子质量约为150×10^3的多肽，释放出菌体时，即被细菌所分泌的蛋白酶裂解为由二硫键相连的两条肽链，一条相对分子质量约为50×10^3的轻链（A链）和一条100×10^3的重链（B链）。轻链为毒素的毒性部分，重链具有结合神经细胞和转运毒素分子的作用，只有当轻链和重链连接在一起时才具有毒素活性。在感染部位，破伤风梭菌释放痉挛毒素，毒素的重链通过其羧基端识别神经肌肉接头处运动神经元细胞膜上的神经节苷脂受体和膜蛋白并与之结合，通过细胞的内吞，形成由细胞膜包裹毒素分子的酸性小泡，称为内化作用。小泡从外周神经末梢沿神经轴突逆行向上，到达脊髓前角运动神经元的细胞体。在运动神经元细胞体的膜小泡中的毒素通过跨突触运动（trans-synaptic movement）从突触后膜释放，穿过突触间隙，汇集于抑制性神经末梢突触前膜的囊泡内，再通过重链N端的介导，发生膜的转位，使轻链进入突触前膜的细胞质中。在跨膜转运中，小泡内的酸性环境使毒素分子构像发生改变，埋藏在分子内部的疏水片段暴露于分子构象表面，使毒素的重链和轻链嵌入小泡膜的脂质双分子层内，形成离子通道，毒素的轻链从小泡腔内转运到神经细胞胞质中。由于轻链为一种锌内肽酶（zinc endopeptidase），可裂解抑制性神经突触前膜细胞质内储存抑制性神经递质（γ-氨基丁酸，甘氨酸）的小泡上膜蛋白的特异性肽键，使小泡膜蛋白发生改变，从而阻止抑制性神经递质从突触前膜释放（图12-2）。在正常生理情况下，当机体一侧屈肌的运动神经元受到刺激而兴奋时，同时还有冲动传递到抑制性中间神经元，使其释放抑制性递质，以抑制同侧伸肌的运动神经元。故屈肌收缩时，伸肌自然松弛，以此协调肢体的屈伸运动。此外，屈肌运动神经元同时也受到抑制性神经元（Renshew细胞）的反馈调节，使其兴奋程度受到控制，不致过高。由于破伤风痉挛毒素能阻止抑制性神经递质的释放，使抑制性神经元的抑制作用减弱，躯干和四肢肌肉的兴奋性增强。当外界刺激转化为神经冲动传入脊髓前角运动神经元时，引起屈肌、伸肌同时发生强烈收缩，导致肌肉出现强烈痉挛。由于持续性背部肌肉痉挛而形成角弓反张的症状。经淋巴、血液到达脑干运动神经中枢的毒素，以相同的机制引起面部肌肉运动的兴奋与抑制失调，由于咀嚼肌痉挛形成苦笑面容、牙关紧闭等典型破伤风临床症状。

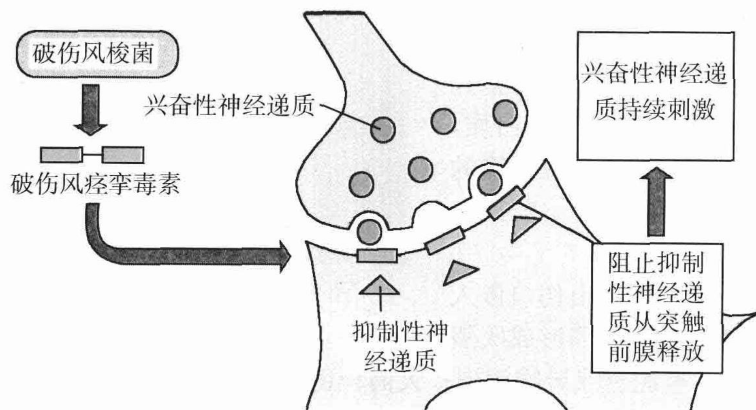


图12-2 破伤风痉挛毒素的作用机制示意图

4. 所致疾病 破伤风梭菌引起的疾病主要是破伤风病，潜伏期一般7～14天，与原发感染部位到中枢神经系统的距离远近有关。典型症状为苦笑面容、牙关紧闭、角弓反张、抽搐，可因窒息或呼吸衰竭而死亡。早期症状为漏口水、出汗和易激动；因自主神经功能紊乱导致的心律不齐，因大量出汗导致脱水。据估计世界上每年约有100万病例发生，死亡率在30%～50%，其中一半的死亡病例是新生儿。我国推广新法接生，对育龄期妇女实行破伤风类毒素接种，使新生儿破伤风发病呈下降趋势，病死率呈递减趋势。

5. 免疫性 机体对破伤风的免疫主要是体液免疫。破伤风痉挛毒素刺激机体产生的抗毒素可结

合游离的破伤风毒素，阻断毒素与神经细胞膜受体的结合，但对已结合到膜上的毒素则无中和作用。由于破伤风痉挛毒素的毒性很强，极少量毒素即可致人死亡，但不足以使机体产生有效保护的抗毒素，故病后不能获得牢固的免疫力。获得有效保护的途径是人工免疫，破伤风痉挛毒素经0.4%甲醛处理后失去毒性，仍然保留免疫原性，成为破伤风类毒素。

（三）微生物学检查法

根据病史和典型的临床症状即可做出临床诊断，破伤风梭菌需在厌氧微环境中才能生长繁殖，在伤口局部查到破伤风梭菌及其芽胞，不一定表明患病，故一般不采集标本进行细菌学检查。

（四）防治原则

正确处理伤口，清创、扩创，防止形成厌氧微环境；应用抗生素杀灭破伤风梭菌，以消除毒素的产生，是十分重要的防治措施。

1. 特异性预防　采用注射破伤风类毒素的主动免疫。目前我国常规采用含有百日咳疫苗、白喉类毒素和破伤风类毒素的百白破三联疫苗（pertussis- diphtheria-tetanus vaccine，DTP），分为儿童剂型和成人剂型，儿童剂型用于＜7岁儿童，成人剂型可用于≥7岁的人，免疫后可同时获得对这三种常见病的免疫力，一般不单独使用破伤风类毒素。免疫程序要求接种5剂含破伤风类毒素的疫苗，可获得长时间的免疫力。基础免疫为＜ 1岁接种3剂，4～7岁和青少年时期（如12～15岁）各加强免疫1剂。对军人和易受创伤的成人，必要时可加强注射破伤风类毒素，使血清中抗毒素迅速达到有效保护的水平。

2. 紧急预防　受伤后，迅速对伤口清创、扩创，以防止形成厌氧微环境，是重要的防治措施。对伤口污染严重而又未经过基础免疫者，可立即注射精制破伤风抗毒素（tetanus antitoxin，TAT）进行被动免疫，剂量为1500～3000U。在注射破伤风抗毒素治疗的同时，还可注射类毒素进行主动免疫，以维持血清中抗毒素水平。

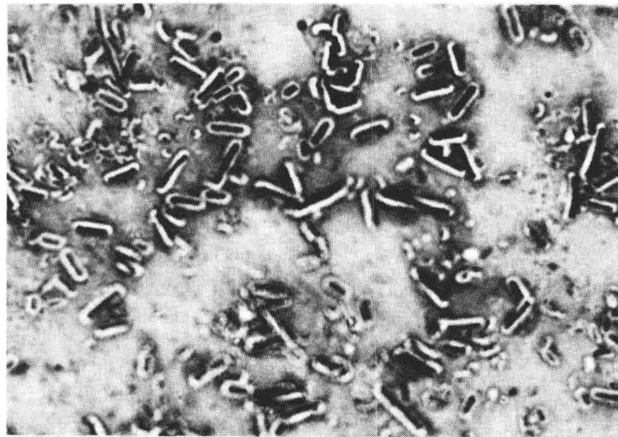
3. 特异性治疗　对已发病者应早期、足量使用TAT，以阻止毒素与细胞膜受体结合，抗毒素的剂量为（1～2）$\times 10^5$U，包括静脉滴注、肌肉注射和伤口局部注射。目前国内外大多已采用人源抗破伤风免疫球蛋白制剂，效果良好、安全。如果所用的破伤风抗毒素是免疫的马血清纯化制剂，无论用于紧急预防还是治疗，在注射前都必须先做皮肤试验，测试有无超敏反应。若皮肤试验呈阳性反应，一般应尽量避免使用，若必须使用，应采用脱敏注射法，同时做好抢救准备。

二、产气荚膜梭菌

产气荚膜梭菌（*C.perfringens*）广泛存在于土壤、人和动物肠道中，能引起人和动物多种疾病，也是引起严重创伤感染的重要病原菌。

（一）生物学性状

1. 形态与染色　产气荚膜梭菌为两端平齐的革兰阳性粗大杆菌，长3～19μm，宽0.6～2.4μm。能形成荚膜，无鞭毛。芽胞位于次极端，呈椭圆形，其直径比菌体窄，但在感染的组织中和普通培养基上很少形成。在被感染的人或动物体内可形成明显的荚膜（图12-3）。


图12-3　产气荚膜梭菌（光镜×1000，杨致邦提供）

2. 培养特性　产气荚膜梭菌厌氧要求不如破伤风梭菌严格，42℃为最适生长温度，繁殖周期仅需8分钟。在血琼脂平板上，多数菌株可形成双层溶血环，内层为不完全溶血，由θ毒素引起；外层为完全溶血，由α毒素引起。在蛋黄琼脂平板上，菌落周围出现乳白色浑

浊圈，由该菌产生的卵磷脂酶（α毒素）分解蛋黄中的卵磷脂所致。若在培养基中加入α毒素的抗血清，则不出现浑浊，此现象称为Nagler反应，为本菌的培养特点。产气荚膜梭菌代谢十分活跃，可分解多种常见的糖类，产酸产气。在庖肉培养基中，可分解肉渣中的糖类而产生大量气体。在牛乳培养基中，分解乳糖产酸，使酪蛋白凝固；同时产生大量气体，将凝固的酪蛋白冲烂呈蜂窝状，并将培养基表面凝固的凡士林上推，甚至冲走试管塞，气势凶猛，称之为“汹涌发酵”（stormy fermentation）现象。

3.分型　产气荚膜梭菌能产生多种外毒素，根据对4种主要毒素（α、β、ε、ι）的产生不同，分为A、B、C、D、E共5个血清型。对人致病的主要为A型，该型菌属于人和动物肠道正常菌群的成员，易于从外环境中分离到。C型可引起坏死性肠炎；B~E群在土壤中不能存活，但可寄生于动物肠道内。

（二）致病性

1. 致病物质　产气荚膜梭菌能产生十余种外毒素，其中多种毒素同时又是胞外酶（表12-1），故能构成强大的侵袭力，其中α、β、ε、ι 4种毒素为致病的主要毒素。

表12-1　产气荚膜梭菌产生的毒素及其分型

毒素	生物学作用	菌株分型				
		A	B	C	D	E
主要毒素						
α（alpha）	卵磷脂酶，增加血管通透性，溶血和坏死作用	+	+	+	+	+
β（beta）	组织坏死作用	−	+	+	−	−
ε（epsilon）	增加胃肠壁通透性	−	+	−	+	−
ι（iota）	坏死作用，增加血管通透性	−	−	−	−	+
次要毒素						
δ（delta）	溶血素	−	±	+	−	−
θ（theta）	溶血素，细胞毒素	±	+	+	+	+
κ（kappa）	胶原酶，明胶酶，坏死作用	+	+	+	+	+
λ（lambda）	蛋白酶	−	+	−	+	+
μ（mu）	透明质酸酶	±	+	±	±	±
ν（nu）	DNA酶	±	+	+	±	±
神经氨酸酶	改变神经节苷脂受体	+	+	+	+	+
其他						
肠毒素	增加肠黏膜细胞通透性	+	nt	+	+	t

+：大多数菌株产生；±：某些菌株产生；−：不产生；nt：尚未研究

在4种主要毒素中，α毒素的毒性最强，各型菌均能产生，以A型菌的产生量最大。表达α毒素的基因位于染色体上，其结构基因大小为1194bp，编码398个氨基酸，相对分子质量为45.48×10^3。α毒素由两个功能区组成，N端具有磷酯酶C 活性，C端具有鞘磷脂酶活性，只有两者协同作用，才具有强的活性。α毒素能同时水解磷脂酰胆碱和鞘磷脂，故能水解细胞膜的主要成分膜磷脂，从而破坏细胞膜结构的完整性，导致细胞裂解，如红细胞、白细胞、血小板和内皮细胞，进而使血管通透性增高，组织坏死，肝、心功能受损，在气性坏疽的形成中起主要作用。β毒素主要由B型和C型菌株产生，是坏死、致死性毒素，可引起人和动物的坏死性肠炎。β毒素可分为β_1、β_2毒素两种，β_2毒素是近年确认的由C型产气荚膜梭菌产生的一种新的毒素，与β_1毒素的结构不同，但具有相似的生物学活性。ε毒素主要由B型和D型产气荚膜梭菌产生，是D型菌的主要致病因子，可引起坏死性损伤和血管通透性增高。ε毒素可导致山羊、绵羊等动物的致死性肠道疾病，对畜牧业造成经济损失，但尚无ε毒素对人和灵长类动物致病的报道。ι毒素主要

由E型菌产生，其作用与ε毒素相似。

此外，很多A型和少数C、D型菌株还能产生肠毒素。该毒素为不耐热的蛋白质，100℃瞬时即被破坏，主要作用于回肠和空肠。其作用机制是肠毒素肽链嵌入细胞膜，破坏细胞膜对离子的运输功能，改变细胞膜的通透性，从而引起腹泻。近年还发现肠毒素可作为超抗原，大量激活外周T淋巴细胞并使其释放各种淋巴因子，参与致病作用。

2. 所致疾病

（1）气性坏疽：60%～80%由A型菌引起，除产气荚膜梭菌外，至少还有5种其他梭菌也能引起气性坏疽，如败毒梭菌、诺维梭菌、溶组织梭菌等。该病多见于战伤，但也见于平时的工伤、车祸、地震灾害等引起的创伤，其感染条件与破伤风梭菌相同，多见于四肢。气性坏疽发病潜伏期短，多为1～4天。由于病菌产生多种毒素和侵袭性酶，病情恶化极快，若不及时处理，常可危及生命，死亡率高。产气荚膜梭菌产生的卵磷脂酶、胶原酶、透明质酸酶、DNA酶等对组织具有分解破坏作用，使病菌易穿过肌肉、结缔组织间隙，侵入四周正常组织；发酵组织中的糖类物质，产生大量气体，造成气肿；同时使血管通透性增高，水分渗出，造成局部水肿；进而挤压软组织和血管，影响血液供应，引起组织坏死。严重病例表现为组织胀痛剧烈，水气夹杂，触摸有捻发感；感染迅速扩散，最终造成大量组织坏死，出现恶臭；产生的毒素和组织坏死的毒性产物被吸收入血，引起毒血症、休克，死亡。

（2）食物中毒：主要由A型产气荚膜梭菌引起，病菌主要污染肉类食品，产生肠毒素。食入后潜伏期约为10小时，临床表现为腹痛、腹胀、水样腹泻；不发热，无恶心、呕吐，1～2天后自愈。

（3）坏死性肠炎：主要由C型产气荚膜梭菌产生β毒素引起，多见于家禽家畜，也可污染食品使人致病。

（三）微生物学检查法

微生物学检查主要针对气性坏疽，因气性坏疽一旦发生，病情凶险，应尽快做出诊断。

1. 直接镜检　从创口深部采集标本涂片、染色、镜检，根据观察到有荚膜的革兰阳性大杆菌，白细胞少且形态不典型（因毒素作用，白细胞无趋化反应），伴有其他杂菌等三个特点即可初步报告，是极有价值的快速诊断法。

2. 分离培养与动物实验　取坏死组织制成悬液，接种血平板、牛乳培养基或庖肉培养基，厌氧培养，观察生长情况。再取培养物涂片、镜检。必要时可取细菌培养液0.5～1 ml给小鼠静脉注射，10分钟后处死小鼠，37℃放置5～8小时。若动物躯体肿胀，取肝或腹腔渗出液涂片、镜检，观察到有荚膜的革兰阳性大杆菌可作出诊断，并可分离培养细菌证实。

（四）防治原则

气性坏疽的防治主要是对伤口及时清创处理，对局部感染应尽早施行扩创手术，切除感染和坏死组织，消除局部厌氧环境，必要时可截肢以防止病变扩散。大剂量使用青霉素等抗生素杀灭病原菌和其他细菌以消除感染源，有条件的可使用气性坏疽多价抗毒素和高压氧舱法治疗，同时要注意避免院内交叉感染。

三、肉毒梭菌

肉毒梭菌（*C.botulinum*）主要存在于土壤中，在厌氧环境下能产生毒性很强的肉毒毒素（*botulinum toxin*）而引起疾病，最常见的是肉毒中毒和婴儿肉毒病。

（一）生物学性状

肉毒梭菌为革兰阳性粗短的杆菌，长4～6μm，宽0.9μm；芽胞呈椭圆形，其直径比菌体宽，位于次极端，使带有芽胞的菌体呈网球拍状（图12-4）；有鞭毛，无荚膜；严格厌氧，可在普通琼脂平板上生长；能产生脂酶，在卵黄培养基上，菌落周围出现混浊圈。根据遗传特性，可将肉毒梭菌分为四组；根据所产生毒素的抗原性不同，可将肉毒毒素分为A、B、C、D、E、F、G共



图12-4 肉毒梭菌（光镜 ×1000）

7个型，大多数菌株只能产生一种型别毒素。Ⅰ、Ⅱ组肉毒梭菌可引起人类疾病，以Ⅰ组多见，产生毒素的主要型别为A、B型，E、F型偶见，我国报告的大多数肉毒梭菌为A型。Ⅱ组肉毒梭菌包括产生E、B、F型毒素的一些菌株，其分解糖类的能力强，不分解蛋白质，芽胞对热的抵抗力不及Ⅰ组肉毒梭菌强。Ⅲ组肉毒梭菌包括产生C、D型毒素的菌株，主要引起鸟类肉毒病。Ⅳ组肉毒梭菌为产生G型毒素的菌株。亦有专著根据第Ⅳ组G型毒素产生菌株不引起肉毒病，而将其划出，从而将肉毒梭菌分为三组6型。

（二）致病性

1. 致病物质　肉毒毒素是已知毒性最强的神经外毒素，毒性比氰化钾强1万倍。小鼠经腹腔注入，其LD_{50}为0.00625ng；据推测1mg结晶的纯肉毒毒素能杀死2亿只小鼠，1g肉毒毒素气溶胶可杀死150万人（LD50/70Kg为0.14μg）。肉毒毒素不耐热，煮沸1分钟可被破坏。肉毒毒素的结构和致病方式与破伤风痉挛毒素非常相似，其前体和裂解后片段的大小也与之相当，与破伤风痉挛毒素的主要不同点是：

（1）肉毒毒素对酸和蛋白酶的抵抗力较强，口服后不易被胃肠消化液破坏，由胃肠道吸收入血后，再经内化作用进入神经细胞膜形成的小泡中，但不从外周神经末梢沿神经轴突上行，而是停留在神经肌肉接头处。

（2）肉毒毒素作用于外周神经肌肉接头处、自主神经末梢以及中枢神经系统的脑神经核，阻碍乙酰胆碱的释放，引起运动神经末梢功能失调，导致肌肉麻痹。

（3）C型和D型肉毒毒素由噬菌体感染肉毒梭菌后经溶原性转换产生，其他型毒素均由细菌染色体DNA编码产生。

2. 所致疾病

（1）食物中毒：主要由进食含有肉毒素的食品引起，在人类，肉毒中毒最常见。食品在制作过程中被肉毒梭菌芽胞污染，制成后未经彻底灭菌，芽胞在厌氧环境中发芽、繁殖，产生毒素。食前对受污染的食品又未经加热烹调，食入已产生的毒素，发生食物中毒。

肉毒中毒的临床表现与其他食物中毒不同，胃肠道症状很少见，主要为神经末梢麻痹。潜伏期可短至数小时，先有乏力、头痛等症状；接着出现复视、斜视、眼睑下垂等眼肌麻痹症状；再是吞咽、咀嚼困难、口齿不清等咽部肌肉麻痹症状；进而膈肌麻痹、呼吸困难，直至呼吸停止而导致死亡，肢体麻痹很少见。病程发展快，病死率高。

在国外，肉毒毒素引起的食物中毒以罐头、香肠、腊肠等肉制品为主。我国过去主要由家庭自制的豆类发酵制品如臭豆腐、豆酱、面酱、豆豉等植物性食品引起，随着人们生活水平的提高，饮食习惯的改变，由肉类食品引起的肉毒中毒增多，应注意预防。

（2）创伤感染中毒：若伤口被肉毒梭菌芽胞污染，芽胞在局部的厌氧环境中发芽并释放出肉毒毒素，导致机体肉毒中毒。

（3）婴儿肉毒中毒：婴儿因食入被肉毒梭菌芽胞污染的食品（如蜂蜜）后，芽胞发芽、繁殖，产生的毒素被吸收而致病。婴儿肉毒中毒的症状与肉毒毒素食物中毒相似，早期的症状是便闭；吸乳、啼哭无力等。

（三）微生物学检查法

微生物学检查的重点是检测肉毒毒素。食物中毒、婴儿肉毒中毒可取粪便、剩余食物分离病原

菌，同时检测粪便、食物或患者血清中的毒素活性。标本可先经80℃加热10分钟，杀死所有的细菌繁殖体，再进行厌氧培养以分离肉毒梭菌。毒素检查可将培养物滤液或食物悬浮液的上清液分成两份，其中一份与抗毒素混合，然后分别注射小鼠腹腔，若小鼠在2天内死亡，经抗毒素处理的小鼠得到了保护，表明有相应毒素存在。

（四）防治原则

防治肉毒梭菌感染的原则为加强食品卫生管理和监督，注意低温保存食品，防止芽胞发芽，食品食用前80℃加热20分钟以破坏毒素。对肉毒中毒患者应尽早注射A、B、E三型多价抗毒素，同时加强护理和对症治疗。

由于肉毒毒素具有很强的毒性，并能通过基因工程的方法制备，应高度警惕恐怖分子把肉毒毒素作为生化武器进行生物恐怖活动，制定必要的应急措施。

四、艰难梭菌

艰难梭菌（*C.difficile*）是人类肠道中的正常菌群成员，当长期使用或不正规应用某些抗生素（氨苄西林、头孢菌素、红霉素、克林霉素等）后，破坏了肠道菌群的生态平衡，引起肠道内菌群失调，耐药的艰难梭菌大量生长繁殖，导致抗生素相关性腹泻（antibiotic-associated diarrhea）和假膜性结肠炎（pseudomembranous colitis）等疾病。

（一）生物学性状

艰难梭菌为革兰阳性粗大杆菌（图12-5），长3.0～16.9μm，宽0.5～1.9μm；有鞭毛；卵圆形芽胞位于菌体次极端，其直径比菌体宽；对氧极敏感，分离困难。健康人群的粪便中，艰难梭菌检出率约为3%，用环丝氨酸-甘露醇等特殊培养基可从粪便中分离，其芽胞在外环境中可存活数周至数月。



图12-5　艰难梭菌（光镜×1000，杨致邦提供）

（二）致病性

部分艰难梭菌能产生毒素A和毒素B两种致病物质，毒素A为肠毒素，能趋化中性粒细胞浸润回肠肠壁，释放淋巴因子，导致液体大量分泌和肠壁出血性坏死。毒素B为细胞毒素，能使细胞的肌动蛋白解聚，破坏细胞骨架，使局部肠壁细胞坏死。编码这两种毒素的基因（*tox*）位于染色体上。机体长期使用抗生素会导致肠道中的部分正常菌群（如双歧杆菌、乳杆菌等）被抑制，发生菌群失调，而耐药的艰难梭菌却大量繁殖并释放毒素，引起内源性感染。临床常见用氨苄西林、克林霉素等抗生素治疗5～10天后出现的水样腹泻，称为抗生素相关性腹泻。部分患者可出现血水样腹泻，并排出假膜，称为假膜性结肠炎。患者有发热、白细胞增多等全身中毒症状，从其粪便内还可检测出一种或两种艰难梭菌的毒素，严重者可危及生命。艰难梭菌是此类疾病最常见的致病菌，也是引起医院内感染的常见细菌。临床治疗应立即停用与耐药有关的抗生素，改用本菌敏感的万古霉素或甲硝唑等。

第二节　无芽胞厌氧菌

无芽胞厌氧菌包括一大类革兰阳性和革兰阴性的球菌和杆菌，共有30多个属，其中与人类疾病相关的主要有10个属（表12-2）。无芽胞厌氧菌在人体正常菌群中，占有绝对优势，是其他非厌氧性细菌的10～1000倍。如在肠道菌群中，厌养菌占99.9%，大肠杆菌仅占0.1%。在皮肤、口腔、

上呼吸道、泌尿生殖道的正常菌群中，80% ~ 90%也是厌氧菌。无芽胞厌氧菌作为机会致病菌可导致内源性感染。在临床厌氧菌感染中，无芽胞厌氧菌的感染率占90%，以混合感染多见。

表12-2 与人类疾病相关的主要的无芽胞厌氧菌

革兰阴性菌		革兰阳性菌	
杆菌	球菌	杆菌	球菌
类杆菌属（*Bacteroides*）	韦荣球菌属（*Veillonella*）	丙酸杆菌属（*Propionibacterium*）	消化链球菌属（*Peptostreptococcus*）
普雷沃菌属（*Prevotella*）		双歧杆菌属（*Bifidobacterium*）	
卟啉单胞菌属（*Porphyromonas*）		真杆菌属（*Eubacterium*）	
梭杆菌属（*Fusobacterium*）		放线菌属（*Actinomyces*）	

一、常见的无芽胞厌氧菌

1. 革兰阴性厌氧杆菌　革兰阴性厌氧杆菌中，临床最常见的是类杆菌属中的脆弱类杆菌（*B.fragilis*），占临床标本所分离厌氧菌的25%。类杆菌的形态特征为两端圆而浓染，中间不着色或着色浅，似空泡状（图12-6），有荚膜。在感染标本中呈明显多形性，细丝状或弯曲，有时菌体淡染，一端着色深，似芽胞（图12-6）。在血平板上厌氧培养24 ~ 48小时，可形成圆形微凸的中等大小菌落，一般无溶血环。该菌为肠道的正常菌群，其含量为10^{10}cfu/g，主要引起腹腔脓肿、败血症等，常与消化链球菌、兼性厌氧菌等引起混合感染，产肠毒素的脆弱类杆菌可导致儿童和成人腹泻。类杆菌具有革兰阴性菌细胞壁，但其脂多糖结构中氨基葡萄糖残基上脂肪酸较少和缺乏磷酸基团，故无内毒素活性。革兰阴性厌氧杆菌中的普雷沃菌属（简称普氏菌属）和卟啉单胞菌属（亦称紫质单胞菌属），多定植于口腔和女性生殖道，与牙周和盆腔感染有关。梭杆菌属为口腔、结肠和女性生殖道中的正常菌群成员，常与其他厌氧菌和兼性厌氧菌引起混合感染，如坏死性溃疡性龈炎。



图12-6 脆弱类杆菌（光镜×1000，杨致邦提供）

2. 革兰阴性厌氧球菌　革兰阴性厌氧球菌中常见的是韦荣球菌属的细菌。韦荣球菌的直径为0.3 ~ 0.5μm，菌体成对、成簇或呈短链状排列。该菌是咽喉部主要的厌氧菌，但在临床标本分离的厌氧菌中低于1%，且多为混合感染，其他革兰阴性厌氧球菌在临床标本中极少分离到。

3. 革兰阳性厌氧杆菌　革兰阳性厌氧杆菌在临床标本分离的厌氧菌中占22%，其中57%为丙酸杆菌，23%为真杆菌。

（1）丙酸杆菌：为小杆菌，常呈链状或成簇排列，无鞭毛，能发酵糖类物质产生丙酸；能在普通培养基上生长，但生长缓慢，需2 ~ 5天。主要存在于皮肤的正常菌群中，与人类有关的丙酸杆菌有3个种，临床感染标本中以痤疮丙酸杆菌（*P.acnes*）最为常见。

（2）真杆菌属：菌体细长，呈多形性，少数菌株有鞭毛；严格厌氧，生化反应活泼，生长缓慢，常需培养7天。目前发现的真杆菌有45个种，是肠道重要的正常菌群，部分种的细菌与感染有关，

但都出现在混合感染中，最常见的是迟钝真杆菌（*E.lentum*）。

（3）双歧杆菌：长短不一，可呈直、弯、棒状、匙状等多种形态；有的一端或两端分叉（图12-7），故名；无荚膜和鞭毛；严格厌氧，耐酸。目前发现的双歧杆菌共有29个种，其中10个种与人类有关。在母乳营养儿粪便中双歧杆菌占细菌总数的98%，为10^{11}～10^{12}个/g（湿便），到中年保持一个恒定的水平为10^{9}～10^{10}个/g，到老年则明显减少为10^{7}～10^{9}个/g。该菌在肠黏膜定植，形成菌膜，使致病菌难以定植，起到生物屏障作用；代谢产生大量醋酸和乳酸，降低肠道内pH，抑制外源病原菌的生长，起到生物拮抗作用；降解亚硝胺等，减少结肠中腐败菌代谢产生的一些潜在致癌物；合成多种消化酶类和B族维生素，促进氨基酸代谢，改善脂代谢与维生素代谢，从而促进蛋白质吸收。由于双歧杆菌的多种有益作用，故被加入奶制品、饮料或胃药中，作为微生态制剂广泛应用，推动了微生态制剂的发展。近年在临床感染标本中已分离出双歧杆菌，但其致病作用尚不明确。

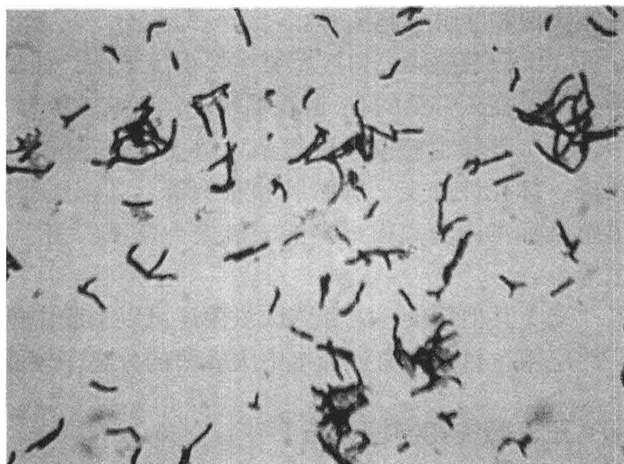


图12-7 双歧杆菌（光镜×1000，杨致邦提供）

4. 革兰阳性厌氧球菌　革兰阳性厌氧球菌中，有临床意义的是消化链球菌属的细菌，主要寄居于女性阴道。消化链球菌形态与链球菌相似，生长缓慢，培养需5～7天。在临床厌氧菌分离株中，占20%～35%，仅次于脆弱类杆菌，但大多存在于混合感染菌中。在厌氧菌菌血症中仅占1%，常为女性生殖道感染所致。

二、致病性

1. 感染条件　无芽胞厌氧菌是寄居于人体的正常菌群，当其寄居部位改变、机体免疫力下降或菌群失调，若局部还有坏死组织、血供障碍等形成厌氧微环境，则易引起内源性感染。多种原因如烧伤、放化疗等也易引起肠黏膜损伤、通透性增加、肠道局部免疫功能下降，从而导致肠道细菌易位，引起肠道外组织器官的感染。

2. 毒力因素　无芽胞厌氧菌的毒力主要表现在以下几个方面：①通过菌毛、荚膜等表面结构黏附和侵入上皮细胞和各种组织；②产生多种毒素、胞外酶和可溶性代谢物，如类杆菌属的某些菌株可产生肠毒素、胶原酶、蛋白酶、纤溶酶、溶血素、DNA酶、透明质酸酶等；③改变其对氧的耐受性，如类杆菌属中很多菌种能产生超氧化物歧化酶，使其对局部微环境氧的耐受性增强，利于该菌的生长而致病。

3. 感染特征　无芽胞厌氧菌感染的特征主要有：①多为内源性感染，呈慢性过程；②感染无特定病型，大多为化脓性炎症，引起组织坏死或形成局部脓肿，也可侵入血液形成败血症；③分泌物或脓液黏稠，呈乳白色、粉红色、血色或棕黑色，有恶臭，有时有气体产生；④使用氨基糖苷类抗生素（链霉素、卡那霉素、庆大霉素）长期治疗无效；⑤分泌物直接涂片可见细菌，但常规培养无细菌生长。

4. 所致疾病　无芽胞厌氧菌可遍及全身各部位，临床常见的有：

（1）腹腔感染：胃肠道因手术、创伤、穿孔等细菌易位引起的腹膜炎、腹腔脓肿等感染，主要与消化道厌氧菌有关。与阑尾、大肠相关的感染主要由类杆菌，特别是脆弱类杆菌引起。在腹腔感染中，脆弱类杆菌占病原菌的60%以上。

（2）女性生殖道与盆腔感染：对手术或其他并发症引起的一系列女性生殖道严重感染，如盆腔脓肿、输卵管卵巢脓肿、子宫内膜炎、脓毒性流产等，厌氧菌是主要病原菌，常见的为消化链球菌、

普雷沃菌和卟啉单胞菌等。

（3）口腔感染：口腔感染主要由厌氧菌，如消化链球菌、产黑色素类杆菌等引起，大多为牙源性感染。临床常见的有：奋森咽峡炎，齿槽脓肿和下颌骨髓炎，急性坏死性溃疡性齿龈炎和牙周炎。

（4）呼吸道感染：厌氧菌可感染呼吸道的任何部位，如引起扁桃体周围蜂窝组织炎、吸入性肺炎、坏死性肺炎、肺脓肿和脓胸等。肺部厌氧菌感染发生率仅次于肺炎链球菌性肺炎。从呼吸道感染标本中分离得最多的厌氧菌为普雷沃菌、坏死梭杆菌、核梭杆菌、消化链球菌和脆弱类杆菌等。

（5）其他感染：无芽胞厌氧菌还可以引起中枢神经系统感染、败血症等。由于抗厌氧菌药物的广泛应用，目前败血症标本中厌氧菌的分离率较低，其中多数为脆弱类杆菌，其次为消化链球菌。

三、微生物学检查法

标本采集　无芽胞厌氧菌大多是人体正常菌群，标本应从感染中心处采集，并注意避免正常菌群的污染。最可靠的标本是无菌切取或活检的新鲜组织，或者是感染深部吸取的渗出物或脓汁。因厌氧菌对氧敏感，采集的标本应立即放入厌氧标本收集瓶中，迅速送检。

直接镜检　脓汁或穿刺液标本可直接涂片染色，以观察细菌的形态特征、染色性及细菌量，供初步判断时参考。

分离培养与鉴定　分离培养与鉴定是证实无芽胞厌氧菌感染的可靠标准，并可测定对抗生素的敏感性。标本应接种营养丰富、新鲜、含有还原剂的培养基、特殊培养基或选择培养基，最常用的是以牛心脑浸液为基础的血平板。最好在厌氧环境中进行接种，37℃厌氧培养2～3天，若无细菌生长，继续培养至1周。生长的细菌必须做耐氧试验，确定是专性厌氧菌后，再进行鉴定。

此外，利用气相色谱、液相色谱检测细菌代谢终末产物能迅速做出鉴定，需氧菌和兼性厌氧菌只能产生乙酸，而检测出其他短链脂肪酸（如丁酸、丙酸）则提示为厌氧菌。还可用核酸杂交、16S rRNA序列分析等分子生物学方法做进一步鉴定。

四、防治原则

防治无芽胞厌氧菌感染的原则是注意清洗创面，去除坏死组织和异物，维持局部良好的血液循环，预防局部形成厌氧微环境。正确选用抗生素。95%以上革兰阴性厌氧菌（包括脆弱类杆菌）对甲硝唑、亚胺培南、哌拉西林、替卡西林、克林霉素等敏感；头孢羟羧氧酰胺（Moxalactam）对脆弱拟杆菌作用较强，是严重的厌氧菌感染的有效和安全的治疗药物；革兰阳性厌氧菌对万古霉素敏感；新型喹诺酮类药对革兰阳性和革兰阴性厌氧菌都有较高的抗菌活性。要注意无芽胞厌氧菌的耐药性，如感染中最常见的脆弱类杆菌能产生β-内酰胺酶，可破坏青霉素类和头孢菌素类抗生素，因此在治疗前，还应对分离菌进行抗生素敏感性测定，以指导临床正确地选用药物进行治疗。

展　望

随着厌氧分离培养技术的改进，临床标本中厌氧性细菌的检出率逐年上升，分离的细菌种类也逐渐增多。不同的厌氧菌耐药机制也各不相同，主要为抗性基因的表达及转移，抗生素降解酶的产生，抗生素作用靶点的修饰及增加主动外排等。随着抗生素的广泛应用，厌氧菌的耐药性问题也日益严重，研究和开发具有多种抗厌氧菌机制的新型广谱抗生素已成当务之急。

随着分子生物学技术和细胞微生物学的发展，对破伤风痉挛毒素、肉毒毒素和产气荚膜梭菌的α、β、ε毒素的编码基因、分子结构、受体以及相关酶活性等正进行深入研究，以研制针对各种毒素的安全疫苗，为防治其引起的严重疾病提供新的措施。

近年来，根据实体肿瘤内为低氧代谢区的病理生理特点，利用厌氧菌可选择性地在肿瘤组织繁

殖，较难被免疫系统识别清除，并可抑制肿瘤细胞的生长，能较好地表达外源基因、安全性较高的特性，将厌氧菌（如减毒的厌氧芽胞杆菌、双歧杆菌）通过基因改造表达对癌细胞有毒性的蛋白质或作为肿瘤靶向性基因治疗的载体，为肿瘤治疗提供了一种新的思路。

（杨致邦）

第十三章　动物源性细菌

由同一种病原菌所引起人类和动物的某一种传染病称为人畜共患病（zoonosis），能引起人畜共患病的病原菌即为动物源性细菌。人类通过直接接触动物或其污染物（如土壤、污水或食品等）及媒介动物叮咬等途径而被感染。动物源性细菌主要有布鲁菌、炭疽芽胞杆菌和鼠疫耶氏菌。

This kind of bacteria is primarily from animal pathogens, human contact with infected animals or their metabolites and cause human infection and main cause of zoonosis. These bacteria including *Brucella*, *Bacillus*, *Yersinia* and *Francisella*.

Brucella are small Gram-negative *bacilli*, non-motile, non-spore, obligate parasites of animals and humans and are characteristically located intracellularly. They are relatively inactive metabolically. *Brucella melitensis* typically infects the goats; *Brucella suis*, swine; *Brucella abortus*, cattle; and *Brucella canis*, dogs. Other species were found only in animals. The bacteria enter the body via through abrasions skin, the alimentary tract or respiratory tract, and then multiply in the reticuloendothelial cells (liver, spleen, lymphoid tissues, bone marrow) for a long period. Infected cows and goat occurs abortion. Brucellosis is diagnosed by the serologic agglutination test, titer of antibodies increase suggests the infection. Until now there is no satisfactory vaccine available for human.

The genus *Bacillus* includes large aerobic, gram-positive rods occurring in chains. Most members of this genus are saprophytic organisms prevalent in soil, water, and air and on vegetation, such as *Bacillus cereus* and *Bacillus subtilis*. Some of them are insect pathogens. *B cereus* can grows in foods and produce an enterotoxin or an emetic toxin and cause food poisoning.

Bacillus anthracis is a large Gram-positive rod, aerobic and non-motile. It forms spores in environment. Anthrax is caused by *anthracis* and is primarily a disease of herbivores, direct contact with infected animals such as sheep, goats, cattle and horses, or by contact with spores present in animal metabolites. The bacteria multiply and release the anthrax toxin, which consists of a protective antigen, an edema factor (an adenylate cyclase) and a lethal factor. Toxic activity depends on the protective antigen and at least one of the other two. Anthrax is characterized with a blank eschar and diagnosed by culture on blood agar, and the disease can be fatal.

The genus *Yersinia* includes *Yersinia pestis*, the cause of plague; *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*, important causes of human diarrheal diseases; and others. *Y.pestis* is a small Gram-negative rod and is a highly virulent pathogen cause systemic disease. Those virulence-factors including an antiphagocytic capsule antigen (fraction 1, V/W), murine toxin, endotoxin and outer membrane protein. The plague is caused by *Y. pestis*, which infects rodents and is spread to man by the fleas. The rat flea carries infection from rat to rat and from rat to human. Clinically the "bubonic" plague disease is not generally transmitted from human to human. Plague is diagnosed depends on the specimens cultivation and serological diagnosis. All cultures are highly infectious and must be handled under bio-safety laboratory.

F tularensis is widely found in animal reservoirs and is transmissible to humans by biting arthropods,

direct contact with infected animal tissue, inhalation of aerosols, or ingestion of contaminated food or water. The resulting disease—tularemia—is relatively uncommon in the United States. The clinical presentation depends on the route of infection, six major syndromes are described. Because of the highly infectious nature of *F tularensis*, this organism is a potential agent of bioterrorism and is currently classified on the select agent list as a category A agent. Laboratories that recover a suspected *F tularensis* should notify public health officials and should send the isolate to a reference laboratory capable of performing definitive identification.

第一节　布鲁菌属

布鲁菌属（*Brucella*），又称作布鲁斯菌属，最早是由美国医师David Bruce首次分离出来而得名的。布鲁菌属细菌是一类人畜共患传染病的病原菌，有6个生物种、19个生物型，但经DNA-DNA杂交研究证明本属只有一个生物种，其他均为生物变种。本属使人致病的有羊布鲁菌（*B.melitensis*）、牛布鲁菌（*B.abortus*）、猪布鲁菌（*B.suis*）和犬布鲁菌（*B.canis*），其余两个种只寄生在动物细胞内。在我国流行的主要是羊布鲁菌病，其次为牛布鲁菌病。

一、生物学性状

形态与染色　革兰阴性，小球杆菌或短小杆菌，长为1.2μm，宽0.4～0.8μm，常常出现着色不规则。无芽胞，无鞭毛，光滑型菌有微荚膜。

培养特性　需氧菌，只有牛布鲁菌在初分离时需5%～10% CO_2。布鲁氏菌属一般在体细胞内寄生，营养要求较高，部分菌株在含有氨基酸，维生素，盐和葡萄糖的培养基上可以生长。在普通培养基上生长缓慢，若加入血清或肝浸液可促进生长。布鲁菌在血琼脂平板上不溶血，在液体培养基中可形成轻度混浊并有沉淀。最适生长温度为35～37℃，最适pH为6.6～6.8。用富集培养基，经37℃培养2～5天可长出微小、透明、无色的光滑型（S）菌落，经人工传代培养后可转变成粗糙型（R）菌落。

抵抗力　抵抗力较强，在土壤、毛皮、病畜的脏器和分泌物、肉和乳制品中可生存数周至数月。在湿热60℃，日光直接照射下20分钟便死亡；对常用消毒剂均较敏感，如用3%来苏儿作用数分钟后可杀死布鲁菌。对热和酸中等敏感，对常用的广谱抗生素也较敏感。

生化反应　大多能分解尿素和产生H_2S。根据产生H_2S的多少以及在含碱性染料培养基中的生长情况，可鉴别羊、牛、猪等三种布鲁菌。该属菌株能利用碳水化合物，不产生酸或气，此特性也是鉴别的重要依据。使人致病的四种布鲁菌，氧化酶和过氧化氢酶活性为阳性。

抗原构造与分型　布鲁菌含有两种抗原物质，即A抗原（牛布鲁菌菌体抗原）和M抗原（羊布鲁菌菌体抗原）。两种抗原在不同的布鲁菌中含量不同，牛布鲁菌含A（abortus）抗原多，而羊布鲁菌含M（melitensis）抗原多。根据两种抗原量的比例不同，可对菌种进行区别，如牛布鲁菌A∶M＝20∶1，而羊布鲁菌A∶M=1∶20，猪布鲁菌A∶M=2∶1。用A与M因子血清进行凝集试验可以鉴别三种布鲁菌（表13-1）。

表13-1　主要布鲁菌的特性与鉴别

菌种	CO_2需要	脲酶试验	H_2S试验	在含燃料培养基中生长		凝集试验	
				复红（1∶50000）	硫堇（1∶2000）	抗A血清	抗M血清
羊布鲁菌	−	不定	−	+	+	−	+
牛布鲁菌	+	+	+	+	−	+	−
猪布鲁菌	−	+	+/−	−	+	+	+

二、致病性与免疫性

致病物质 布鲁菌的主要致病物质有内毒素、荚膜与侵袭性酶（透明质酸酶、过氧化氢酶等）等。荚膜与侵袭性酶增强了该菌的侵袭力，使细菌能通过完整皮肤、黏膜进入宿主体内，并在机体脏器内大量繁殖和快速扩散入血流。

所致疾病 布鲁菌的动物宿主广泛，包括家畜、家禽及野生动物。感染家畜引起母畜流产，受孕的牛，猪，羊和山羊胎盘和胎膜上存在的赤藓糖醇是布鲁氏菌的生长因子，感染后细菌增殖引起胎盘炎和流产，而人类胎盘上不存在赤藓糖醇，即便被感染也不会引起流产，病畜还可表现为睾丸炎、附睾炎、乳腺炎、子宫炎等。牛、羊、猪等家畜是人类感染布鲁菌的主要传染源。人类主要通过接触病畜或接触被污染的畜产品，经皮肤、黏膜、眼结膜、消化道、呼吸道等不同途径感染。不同布鲁氏菌对人类的致病性有明显的差异，牛布鲁菌引起温和疾病没有化脓性并发症；羊布鲁菌引起更严重和急性的干酪性肉芽肿。

布鲁菌侵入机体经1～6周的潜伏期，此期细菌被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，称为胞内寄生菌，可随淋巴流到局部淋巴结生长繁殖并形成感染灶。当细菌繁殖达一定数量，突破淋巴结而侵入血流，出现菌血症。随后细菌进入肝、脾、骨髓和淋巴结等脏器细胞，发热也渐消退。细菌在细胞内繁殖到一定程度可再度入血，又出现菌血症而致体温升高。如此反复形成的菌血症，使患者的热型呈波浪式，临床上称为波浪热。感染易转为慢性，在全身各处引起迁徙性病变，可出现全身乏力、头痛、低热、神经过敏等症状，体征有肝、脾肿大。也会引起骨髓炎，脑膜炎和胆囊炎等疾病。病程一般持续数周至数月。

布鲁菌的致病过程与该菌引起的Ⅳ型超敏反应有关。菌体抗原成分与相应抗体形成的免疫复合物，可导致急性炎症和坏死，病灶中有大量中性粒细胞浸润，可能是一种Ⅲ型超敏反应（Arthus反应）。

免疫性 机体感染布鲁菌后可产生免疫力，以细胞免疫为主。布鲁菌的免疫原性来自细胞壁中的高磷脂；以赖氨酸为优势氨基酸的8个氨基酸；不含庚糖。病后机体产生的IgM和IgG型抗体，可发挥免疫调理作用。各菌种和生物型之间可出现交叉免疫。过去认为当机体内有布鲁菌存在时，对再次感染才有较强的免疫力。但近年来认为随着病程的延续和机体免疫力的增强，体内的布鲁菌不断被杀灭，因此体内可变为无菌免疫。

三、微生物学检查与防治

标本采集 常用血液和骨髓标本，急性期血培养阳性率可高达70%。在急性期、亚急性期患者取骨髓分离，对儿童常用骨髓分离。病畜的子宫分泌物、羊水，流产动物的肝、脾、骨髓等也可作为分离培养的标本。

分离培养与鉴定 将标本接种于双相肝浸液培养基，置35～37℃，8%～10% CO_2孵箱中培养。培养几天后形成直径为 < 1mm的细小菌落，若未见菌生长，一般需经过三周培养方可排除。细菌型别鉴定主要根据涂片染色镜检（革兰阴性球杆菌），氧化酶，过氧化氢酶和尿素酶活性，对CO_2的要求，H_2S产生，染料抑菌试验，玻片血清凝集等结果确定布鲁菌。猪布鲁菌和羊布鲁菌尿素酶活性接种5分钟内判定结果，布鲁菌属的其他种的阳性结果观察可能延迟到接种后的24小时。

血清学试验 发病第一周开始出现IgM抗体，三个月后达最高浓度，持续在慢性期。用适当的抗生素治疗后，部分患者体内持续时间为两年。发病三周后开始出现IgG抗体，6～8周达最高浓度，一般IgG和IgA抗体的水平是平行的。常用的血清学试验检测不到犬布鲁菌。

（1）凝集试验：血清凝集试验发病1～7天后血清中开始出现IgM，将患者血清作倍比稀释，标准菌量为 1×10^9cfu/ml，进行玻片凝集试验，效价达到1：200有诊断意义。当机体获得霍乱菌苗时会提高布什菌凝集反应的效价。用胶乳凝集试验可在6分钟内判定结果，方法简易可靠。

（2）补体结合试验：一般发病3周后出现IgG抗体，由于此抗体能维持较长时间，故对诊断慢性布鲁菌病意义较大。此试验特异性高，试验结果以1：10为阳性。

（3）酶联免疫吸附法：细胞质蛋白作为抗原，可检测IgG，IgA和IgM抗体。此方法比其他方法有更好的敏感性和特异性。

（4）抗球蛋白试验（Coombs 试验）：亚急性期，三种抗体（IgG，IgM，IgA）都会出现，有独立活性，持续时间较长。血清浓度高时IgA抗体的血清学试验结果为阳性，而血清浓度低时IgA抗体被IgG和IgM干扰导致凝集试验结果为阴性，此时需用Coombs抗球蛋白法检测。在病程中凝集效价出现增长者有诊断意义。

皮试试验　布鲁菌素（brucellin）或布鲁菌蛋白提取物作皮内注射，24～48天后观察结果。局部红肿浸润直径达1～2cm者为弱阳性，＞2～3cm为阳性，＞3～6cm为强阳性。若红肿在4～6天内消退者为假阳性。皮试阳性可诊断慢性或曾患过布鲁菌病。

防治原则　控制和消灭家畜布鲁菌病，切断传播途径，免疫接种，牛奶和牛奶产品的巴斯消毒，减少可能的职业危害因素是主要的预防措施。免疫接种以畜群为主，疫区人群也应接种减毒活疫苗，有效期约一年。

布鲁菌对四环素类和氨苄西林敏感。治疗时，若是急性期和亚急性期患者，WHO推荐的首选方案是利福平与多西环素联合使用，除采用上述病原治疗外，尚需进行脱敏和对症治疗。四环素或链霉素治疗时间2～3周或延长到6周。

第二节　芽胞杆菌属

芽胞杆菌属（*Bacillus*）有212个种和亚种，是一群需氧、能形成芽胞的革兰阳性大杆菌，其中的炭疽芽胞杆菌（*B.anthracis*），俗称炭疽杆菌，是人类历史上第一个被发现的病原菌，是引起动物和人类炭疽病的病原菌。在2001年美国9·11事件后，发生了炭疽芽胞粉末邮件袭击事件，造成22人发病，皮肤炭疽11例，肺炭疽11例，肺炭疽中死亡5例，故引起了全球的关注。枯草芽胞杆菌（*B.subtilis*）和蜡样芽胞杆菌（*B.sereus*）等大多数芽胞杆菌为腐生菌，分布广泛，主要以芽胞形式存在于土壤、水、空气和尘埃中，常造成实验室污染，当机体免疫力低下时，偶可致病，其中部分菌株是昆虫的病原菌。蜡样芽胞杆菌可产生肠毒素引起人食物中毒。枯草芽胞杆菌等偶尔引起结膜炎、虹膜炎及全眼炎等。

一、　炭疽芽胞杆菌

炭疽芽胞杆菌（*B.anthracis*）是动物和人类炭疽（anthrax）的病原菌，牛与羊等食草动物的发病率最高，人可通过接触患炭疽的动物及其畜产品，或通过存在于空气、土壤中的炭疽杆菌芽胞而被感染，多引起皮肤炭疽，也有肠炭疽、肺炭疽和脑膜炎炭疽等。

（一）生物学性状

形态与染色　炭疽芽胞杆菌是致病菌中最大的革兰阳性粗大杆菌，长5～10μm，宽1～3μm，两端截平，无鞭毛。新鲜标本直接涂片时，常单个或呈短链；经人工培养的炭疽芽胞杆菌形成竹节样排列的长链（图13-1）。在有氧条件下形成的芽胞多呈椭圆形，位于菌体中央。有毒菌株在机体内或含血清的培养基中可形成荚膜。

培养特性　需氧或兼性厌氧，最适温度为30～35℃，在普通琼脂培养基上培养24小时，形成灰白色粗糙圆形菌落，低倍镜观察可见卷发状边缘。在血琼脂平板上不溶血，在肉汤培养基中由于形成长链而呈絮状沉淀生长。在明胶培养基中经37℃培养24小时可使表面液化呈漏斗状，由于细菌沿穿刺线向四周扩散而成为倒松树状。有毒菌株在含$NaHCO_3$的血琼脂平板或含5%血清的营养培养基内，置5% CO_2孵箱37℃培养24～48小时可出现荚膜，形成黏液性菌落。

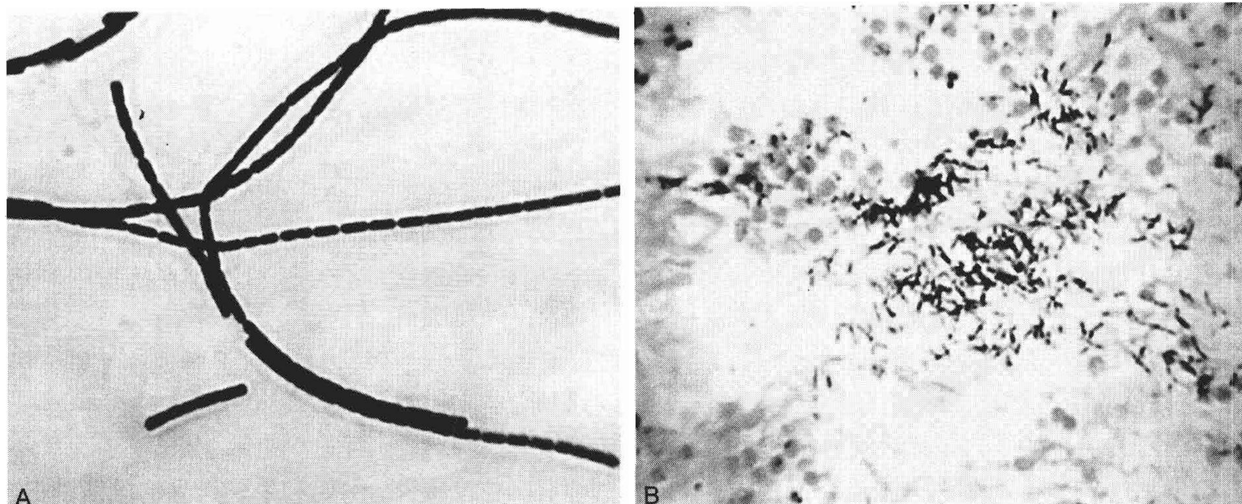


图13-1
A.培养的炭疽芽胞杆菌（×1000）；B.组织细胞内的炭疽芽胞杆菌（×400）（取自Jawetz，Melnick，& Adelberg. Medical Microbiology. 24th ed. United States）

抗原结构　炭疽芽胞杆菌的抗原分为两部分，一部分是结构抗原，包括荚膜、菌体和芽胞等抗原成分，另一部分是炭疽毒素复合物。

1. 炭疽毒素　由保护性抗原（protective antigen，PA）、致死因子（lethal factor，LF）和水肿因子（edema factor，EF）三种蛋白质组成的复合物，由质粒PXO1的基因（*pagaA*、*cya*、*lef*）编码，其中水肿因子是腺苷酸环化酶。注射给实验动物可出现炭疽的典型中毒症状。但致死因子和水肿因子单独存在时则不会发挥生物学活性，水肿因子与保护性抗原结合后组成水肿毒素；致死因子与保护性抗原结合后组成致死毒素，能引起实验动物的水肿和致死。炭疽毒素具有抗吞噬作用和免疫原性。

2. 荚膜多肽抗原　由多聚D-谷氨酸多肽所组成，抗原性较弱。所产生的抗体无免疫保护性。由质粒PXO2的基因（*capB*、*capC*和*capA*）编码。具抗吞噬作用，与细菌毒力有关。

3. 芽胞抗原　由芽胞的外膜、皮质等组成的芽胞特异性抗原，具有免疫原性和血清学诊断价值。

4. 菌体多糖抗原　由D-葡萄糖胺、D-半乳糖组成，与毒力无关。由于耐热，此抗原在病畜皮毛或腐败脏器中虽经长时间煮沸仍可与相应抗体发生沉淀反应，称Ascoli热沉淀反应，有利于对炭疽芽胞杆菌病原的流行病学调查。

抵抗力　细菌芽胞在干燥土壤或皮毛中能存活数年至20余年，牧场一旦被污染，传染性可持续数十年。芽胞对化学消毒剂的抵抗力也很强，如用5%苯酚需5天才被杀死。但对碘及氧化剂较敏感，1：2500碘液10分钟、0.5%过氧乙酸10分钟即可杀死。高压蒸汽灭菌法121℃、15分钟能杀灭芽胞。本菌对青霉素、红霉素、氯霉素等均敏感。

（二）致病性与免疫性

致病物质　炭疽芽胞杆菌的主要致病物质是荚膜和炭疽毒素，其致病力取决于生成荚膜和毒性的能力。由质粒DNA控制荚膜和炭疽毒素产生。大多数炭疽芽胞杆菌的毒力主要和两个质粒（PXO1；PXO2）相关。PXO1主要编码三种毒力因子及其他相关因子；PXO2编码荚膜相关因子。荚膜有抗吞噬作用，有利于细菌在宿主组织内繁殖扩散。炭疽毒素是造成感染者致病和死亡的主要原因，毒性作用直接损伤微血管内皮细胞，增加血管通透性而形成水肿。

所致疾病　炭疽芽胞杆菌是引起食草动物（牛、羊、马等）炭疽的病原菌，可经多种方式传播，引起人类炭疽。临床类型主要包括：

1. 皮肤炭疽　约占病例的95%以上，人因接触患病动物或受染毛皮而引起皮肤炭疽，细菌或芽胞由颜面，四肢等皮肤小伤口侵入，经一天左右局部出现小痂，继而周围形成水疱、脓疮类似于

昆虫咬伤、最后形成坏死、溃疡并形成特有的黑色焦痂，伤口直径为1～3cm，故名炭疽。抗生素治疗无效，其中20%的患者出现败血病，引起全身感染致死。

2. 肠炭疽　较少见，在非洲，亚洲和美国等国家较为多见。食入未煮熟的病畜肉类、奶或被污染食物引起肠炭疽，患者出现连续性呕吐，血性腹泻，腹痛，肠麻痹及血便等消化道症状；有的消化道症状不明显，但以全身中毒为主，2～3天死于毒血症。

3. 肺炭疽　吸入含有大量病菌芽胞的尘埃可发生肺炭疽。潜伏期为6周，患者出现呼吸道症状，以胸骨下痛为主。早期临床表现与出血坏死性和纵隔水肿有关，X-射线拍片子结果纵隔明显变宽，胸膜出血引起积血，后来出现出血性脑膜炎和肠溃疡等病症。很快也出现全身中毒症状而死亡。

上述三型均可并发败血症，若血液中含菌量达10^7/ml能引起死亡。偶见引起炭疽性脑膜炎，死亡率极高。

免疫性　感染炭疽芽胞杆菌后可获得持久性免疫力。一般认为与机体针对炭疽毒素保护性抗原产生的保护性抗体及吞噬细胞的吞噬功能增强有关。

（三）微生物学检查与防治

标本的采集　人类皮肤炭疽早期取水疱、脓疱内容物，晚期取血液；肠炭疽取粪便、血液及畜肉等；肺炭疽取痰、病灶渗出液及血液等。采取标本时要注意个人防护，严禁在室外解剖炭疽动物尸体避免芽胞污染牧场及环境，在无菌条件下割取耳尖或舌尖组织送检。

取渗出液、血液涂片进行革兰染色，发现有荚膜或呈竹节状排列的革兰阳性大杆菌，或用特异性荧光抗体染色镜检、免疫组织化学染色技术等，结合临床症状可作出初步诊断。

分离培养与鉴定　将标本接种于血琼脂平板和碳酸氢钠琼脂平板，培养后观察菌落（灰白色、粗糙型、边缘不整齐），非溶血性，用青霉素串珠试验、噬菌体裂解试验等进行鉴定。青霉素串珠试验的原理是炭疽芽胞杆菌在含微量（0.05～0.5U/ml）青霉素的培养基上，其形态变异为大而均匀的圆球形，呈串珠状排列，而其他需氧芽胞杆菌无此现象。半固体培养基上无运动型、含重碳酸盐的培养基上形成荚膜，需5%～7% CO_2。

必要时还可以把检材或培养物接种于小鼠或豚鼠，2～3天动物发病，在内脏及血液中可检测出带荚膜的炭疽芽胞杆菌。另外用酶联免疫法可检测荚膜抗体，分别四周取急性期和恢复期的血清做试验，效价为 ＞1∶32。ELISA检查炭疽毒素，炭疽芽胞杆菌菌种间同源性高，相互间遗传差异性很小，序列同源性达99%。因此还可采用PCR技术检测。其中Ames株的基因全序列已完成测序。炭疽芽胞杆菌与其他需氧芽胞杆菌的鉴别见表13-2。

表13-2　炭疽芽胞杆菌与其他需氧芽胞杆菌的鉴别

性状	炭疽芽胞杆菌	需氧芽胞杆菌
荚膜	+	−
动力	−	+
血平板	不溶血或微溶血	多为迅速而明显溶血
$NaHCO_3$琼脂平板	粘液型菌落（有毒株）	粗糙型菌落
青霉素串珠试验	+	−
噬菌体裂解试验	+	−
动物致病力试验	+	−

防治原则　炭疽的预防重点应放在控制家畜感染和牧场的污染。①病畜应严格隔离或处死深埋，死畜严禁剥皮或煮食，必经焚毁或深埋2米以下；②被感染动物的产品灭菌处理（一般用高压灭菌法）；③适当处理衣服和手套等被感染可能性的防护材料；④用炭疽减毒活疫苗，接种对象主要是疫区牧民、屠宰畜牧人员、兽医和制皮革工人等。免疫力可持续一年。接种对象是疫区牧民、兽医、皮革、毛纺工人等。治疗以青霉素为首选药物，可与庆大霉素或链霉素联合使用，青霉素过

敏者可用环丙沙星及红霉素等。

由于炭疽芽胞杆菌的特殊性，国际上有些生物恐怖分子把炭疽芽胞杆菌作为生物战剂或生物袭击的手段，我们应当提高警惕，制定好应对措施。

二、蜡样芽胞杆菌

蜡样芽胞杆菌（*B.sereus*）为革兰阳性大杆菌，芽胞多位于菌体中央或次末端。在普通琼脂平板上生长良好，菌落较大、灰白色、表面粗糙似融蜡状，故名。本菌广泛分布于土壤、水、尘埃、淀粉制品、乳和乳制品等食品中。可引起食源性疾病和机会性疾病。

蜡样芽胞杆菌引起食物中毒必须达到一定的感染量即食物中含菌量达10^5/g 以上才能发病。所引起的食物中毒分两种类型：①呕吐型：由耐热的肠毒素引起，于进食1～5小时后发病，主要是恶心、呕吐、腹部痛性痉挛，仅有少数有腹泻；严重者偶出现暴发性肝衰竭，病程不超过24小时；②腹泻性：由不耐热性肠毒素引起，潜伏期为1～24小时，发生胃肠炎症状，主要为腹痛、腹泻和痢疾，痛性痉挛，偶有发热和呕吐。

此外，蜡样芽胞杆菌是眼部感染的主要病原菌，可引起严重的角膜炎、眼内炎和全眼球炎等，治疗不及时易造成失明。该菌有时也会引起局限性感染和全身感染，如心内膜炎、脑膜炎、骨髓炎和肺炎等。

发生食物中毒时采取可疑食物或收集粪便及呕吐物进行检验。除进行分离培养外，须做活菌计数。因暴露于空气中的食物会在一定程度上受到该菌污染，故不能因分离出蜡样芽胞杆菌就认为是食物中毒的病原菌。根据形态、染色性、菌落特征及生化型、血清型和噬菌体分型做鉴定。本菌对红霉素、氯霉素和庆大霉素敏感，对青霉素、磺胺类耐药。

其他芽胞杆菌对人类几乎没有致病性，其中芽胞杆菌属的5个生物种（*B thuringiensis*，*B popilliae*，*B sphaericus*，*B larvae*，and *B lentimorbus*）是昆虫的病原菌，部分芽胞杆菌可作为生物杀虫剂。

第三节 耶尔森菌属

耶尔森菌属（*Yersinia*）属于肠杆菌科，包括鼠疫耶氏菌、小肠结肠炎耶氏菌与假结核耶氏菌等至少11个菌种，这是一类革兰阴性小杆菌，过氧化氢酶活性阳性，氧化酶活性阴性，微量需氧或兼性厌氧菌，对人类引起严重疾病。其中鼠疫耶氏菌、小肠结肠炎耶氏菌和假结核耶氏菌对人类的致病性已明确。本属细菌通常先引起啮齿动物、家畜和鸟类等动物感染，人类通过接触已感染的动物、食入污染食物或节肢动物叮咬等途径而被感染。

一、鼠疫耶氏菌

鼠疫耶氏菌（*Y.pestis*），俗称鼠疫杆菌，是引起鼠疫的病原菌。鼠疫是一种自然疫源性的烈性传染病，人类历史上曾发生过三次世界性大流行，死亡人数以千万计，给人类带来的灾害超过任何一种自然灾害。每次大流行的菌种在代谢特点方面都有所差别，据此又分别命名为三种生物型，即古典型、中世纪型和东方型。人类鼠疫是因直接接触、剥食了染有鼠疫的动物（旱獭、绵羊等）或被染疫的鼠蚤叮咬而受染。近数十年来鼠疫的发病率已明显下降，但仍有局部散发流行，目前主要发生于亚洲、非洲和南美洲地区。我国西北等内陆地偶有散发病例，因此，鼠疫仍是我国重点监控的自然疫源性传染病。

（一）生物学性状

形态与染色　两端钝圆，两极浓染的卵圆形短小杆菌。革兰染色阴性，有荚膜，无鞭毛，无芽胞（图 13-2）。在不同的检材标本或培养标本中，表现出不同形态。采用死于鼠疫的尸体或动物新鲜内脏制备的印片或涂片，形态典型。但在化脓或溃疡性病灶及腐败材料中见到的细菌形态不典型，

菌体膨大成球，且着色不佳。如在陈旧培养物或生长在含高盐（30g/L NaCl）的培养基上则呈多形态性，可见球形、杆形、棒形或哑铃状等。

培养特性　兼性厌氧，在含血液或组织液的培养基上生长，24小时后可形成细小、黏稠的粗糙型菌落，在组织液培养基上生长时最适温度为30℃，而在血平板上培养37℃，pH为6.9～7.2。在肉汤培养管底部开始出现絮状沉淀物，48小时肉汤表面形成菌膜，稍加摇动菌膜呈"钟乳石"状下沉，此特征有一定鉴别意义。

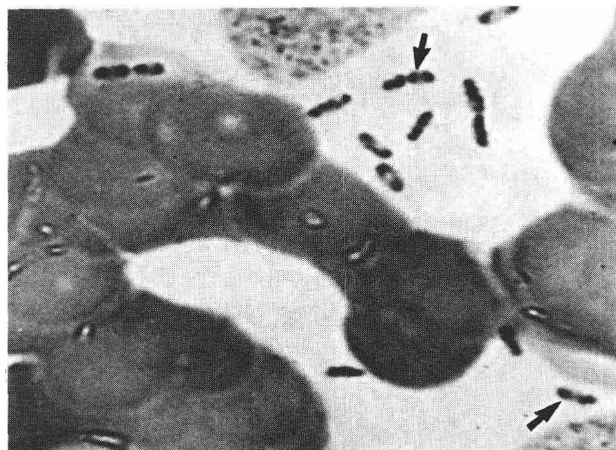


图13-2　血液中的鼠疫耶氏菌
（取自Jawetz，Melnick，& Adelberg. Medical Microbiology. 24th ed. United States）

抗原结构　鼠疫耶氏菌的抗原结构复杂，至少有18种抗原，重要的有F1、V/W、外膜蛋白和鼠毒素等四种抗原，这些抗原由细菌质粒DNA编码产生，与鼠疫耶氏菌的致病性有关。

1. F1（fraction 1）抗原　是鼠疫耶氏菌的荚膜成分（$20 \sim 50 \times 10^3$），由质粒DNA编码（110 kb），具有抗吞噬的作用，故与其毒力相关。F1的抗原性强，其相应抗体具有免疫保护作用。但F1抗原是一种不耐热的糖蛋白，100℃ 15分钟即失去抗原性。

2. V/W抗原　由质粒DNA编码（70kb）。V抗原存在于细胞质中，为可溶性蛋白，在37℃及含钙的条件下可产生。W抗原位于菌体表面，是一种脂蛋白；两种抗原总是同时存在，具有抗吞噬作用，使细菌具有在宿主细胞内存活的能力，与细菌毒力有关。

3. 外膜蛋白（*Yersinia* outer membrane proteins，Yop）　其编码基因与V/W基因存在于同一质粒上，外膜蛋白具有抗吞噬细胞的移动和吞噬作用，也具有抑制血小板的聚集作用，在致病过程中起重要的作用。

4. 鼠毒素（murine toxin，MT）　由质粒DNA编码产生的外毒素，为可溶性蛋白，对鼠类有剧烈毒性，1μg即可使鼠致死，主要作用在心血管系统，引起毒血症、休克。MT具有良好的抗原性，用甲醛处理可使其脱毒制成类毒素，用于免疫动物制备抗毒素。

（二）致病性与免疫性

致病性　鼠疫是自然免疫源性传染病，一般先在鼠类间发病和流行，通过鼠蚤的叮咬而传染人类，当大批病鼠死亡后，失去宿主的鼠蚤转向人群或其他动物（如旱獭、绵羊等）。人患鼠疫后，又可通过人蚤或呼吸道等途径在人群间流行。临床常见有腺鼠疫、肺鼠疫和败血症型鼠疫。

腺鼠疫：以急性淋巴结炎为特点。鼠疫耶氏菌能在吞噬细胞内生长繁殖，沿淋巴流到达局部淋巴结，引起严重的淋巴结炎。侵犯的淋巴结多在腹股沟，引起肿胀、化脓和坏死。

肺鼠疫：通过呼吸道吸入感染，也可有腺型或败血症型鼠疫蔓延而继发。患者高热寒战，咳嗽、胸痛、咯血，患者多因呼吸困难或多器官功能衰竭而死亡，也会出现肺炎和脑膜炎的症状。死亡患者的皮肤常呈黑紫色，故有"黑死病"之称。

败血症型鼠疫：重症腺鼠疫或肺鼠疫患者的病原菌可侵入血流，导致败血症型鼠疫，弥散性血管内凝血而引起低血压，体温升高至39～40℃，发生休克和DIC，皮肤黏膜见出血点及淤斑，全身中毒症状和中枢神经系统症状明显，肾脏和心肌功能衰竭，死亡率高。

免疫性　感染鼠疫耶氏菌后能获得牢固免疫力，再次感染罕见。机体主要产生针对F1抗原、V/W抗原的抗体等，这些抗体具有调理促吞噬、凝集细菌及中和毒素等作用。

（三）微生物学检查与防治

标本的采集　因鼠疫为法定甲类传染病，标本应送到有严格防护措施的生物安全实验室检测。对疑似鼠疫的患者，应在服用抗菌药物前，按不同症状或体征，可采取淋巴结穿刺液、痰（肺炎）、

脑膜炎（脑脊液）、血液、咽喉分泌物等。人或动物尸体应取肝、脾、肺、淋巴结和心血等，分别装人无菌容器。腐败尸体需取骨髓。取急性期和恢复期的血清检测抗体水平。

检材直接涂片或印片，进行革兰染色或美蓝染色，镜检观察典型形态与染色性。免疫荧光试验可用于快速诊断。

分离培养与鉴定　将检材接种于血琼脂平板、麦康基（氏）琼脂平板或0.025%亚硫酸钠琼脂平板等，在固体培养基上生长较慢，血平板上24小时内生长。经24小时培养后形成针尖样小菌落，经48小时后才形成1～1.5mm灰白色较黏稠的粗糙型菌落。血液标本应先接种在肉汤培养基中增菌。在液体培养基中孵育48小时可形成“钟乳石”现象。当分离出可疑菌落时，可作涂片染色后镜检，生化试验，血清凝集试验等进一步鉴定。国内外学者还采用噬菌体裂解试验，毒力因子，菌体脂肪酸成分等分析方法，对鼠疫耶氏菌进行菌株分型。

在不能获得鼠疫耶氏菌的情况下，可检测人或动物血清中的鼠疫抗体滴度。同时，也可以采用反向间接血凝试验、免疫荧光反应等方法，检查有无鼠疫耶氏菌抗原的存在。

采用PCR技术检测鼠疫耶氏菌核酸，可用于鼠疫的流行病学调查和紧急情况下的检测。已建立了多重PCR，实时荧光定量PCR等方法。还可以采用rRNA基因指纹图（ribotyping），脉冲场凝胶电泳（PFGE）以及随机扩增DNA多态性（RAPD）等方法分析和鉴定。目前着重在筛选高特异性引物，改进扩增产物的分析方法等，以进一步提高检测鼠疫耶氏菌核酸的特异性和敏感性。

血清学实验　曾经没接种过疫苗的患者，将恢复期血清进行薄片凝集试验，效价为 ≥1∶16 实验结果为阳性并有诊断意义。

防治原则　鼠疫耶氏菌是传统生物战剂之一，也是恐怖分子可能用于制造生物恐怖袭击的微生物之一，将严重威胁着人类的健康。因此，我们随时要提高警惕，作好预警和疫情监测报告工作。

对疫区进行隔离封锁，加强疫区的动物间和人间的鼠疫监测工作，密切注意动物鼠疫的流行动态，防止人间鼠疫的发生。

灭鼠、灭蚤是切断鼠疫传播环节，消灭鼠疫传染源的根本措施。对于感染了鼠疫的旱獭或绵羊，应果断处死，彻底消毒尸体和现场。此外，应迅速扑灭疫情，处理疫区，加强国境、海关检疫。

鼠疫耶氏菌对理化因素抵抗力弱。在湿热80℃ 10分钟或100℃ 1分钟死亡；5%甲酚皂（来苏儿）或1%苯酚20分钟内可将痰液中病菌杀死，但在自然环境的痰液中能存活36天，在蚤粪和土壤中能存活1年左右。

我国目前应用EV无毒株生产活菌疫苗，多用皮下、皮内接种或皮上划痕，免疫力可维持 8～10个月。

鼠疫患者如不及时治疗，极易死亡，肺鼠疫的死亡率为100%。若抢救及时，大多数患者能够治愈。因此，对鼠疫患者的早期诊断和及时治疗非常重要。治疗中应早期足量用药，采用链霉素、庆大霉素、磺胺类及四环素类等药物均有效。

二、小肠结肠炎耶氏菌

小肠结肠炎耶氏菌（*Y.enterocolitica*）是引起人类小肠结肠炎的病原菌。本菌可寄居在多种动物体内，如鼠、兔、羊、牛、猪、狗等，人类通过污染食物、饮料等经消化道或因接触染疫动物而感染。

（一）生物学性状

形态与染色　革兰阴性杆菌，无芽胞、无荚膜，25℃培养时有周身鞭毛，但37℃培养时则无鞭毛。

培养特性　兼性厌氧。耐低温，在4℃培养2～4周出现细小的菌落，最适温度为25℃、且出现动力，37℃培养动力消失。麦康基琼脂培养基用于传代培养。某些菌株在血琼脂平板上可出现溶血环，在肠道菌选择培养基上形成不发酵乳糖的无色半透明、扁平的小菌落。能分解葡萄糖、蔗糖，产酸不产气、不形成H_2S、脲酶活性阳性、氧化酶活性阴性。

血清型 根据菌体O抗原可分为50多种血清型，其中O3、O8和O9血清型与人类疾病有关，且致病性别各地区也不同。我国主要为O9、O8、O5及O3等血清型。有毒力菌株大多具有V和W抗原，外毒素蛋白等。

（二）致病性

肠道结肠炎耶氏菌是一种肠道致病菌，具有侵袭性及产毒素性。V-W抗原具有抗吞噬作用。O3、O8、O9等菌株可产生耐热性肠毒素，与大肠埃希菌ST肠毒素相似。另外，某些菌株的O抗原与人体组织有共同抗原，可刺激机体产生抗体，引起身体免疫性疾病。

大约$10^8 \sim 10^9$个肠道结肠炎耶氏菌侵入消化道才引起感染，该病原菌在消化道黏膜上增殖引起发炎和溃疡，发病潜伏期为5～10天，早期症状包括发热、腹痛和腹泻等，腹泻为黏液或水样便。发病1～2周后，有些患者出现关节痛、关节炎、结节性红斑等症状。偶有肺炎、脑膜炎及败血症等。

（三）微生物学检查与防治原则

标本取粪便、血液、手术探查材料等，根据该菌嗜冷特性，将标本置pH7.6的磷酸缓冲液中，于4℃培养2～4周；用麦康基琼脂培养基置25℃培养并进行鉴定。主要鉴定依据为25℃培养时动力阳性、嗜冷性、脲酶阳性、氧化酶阴性、H_2S阳性及血清学鉴定等。

对肠道结肠炎耶氏菌感染没有有效的防治措施。发病时用抗生素治疗，该菌对氨基糖苷类、氯霉素、四环素、甲氧苄啶-磺胺甲基异噁唑、氧哌嗪西林钠、第三代头孢菌素及氟喹诺酮类等敏感。对氨苄西林和第一代头孢菌素有抗性。

三、假结核耶氏菌

假结核耶氏菌（*Y.pseudotuberculosis*）存在于多种动物的肠道中，人类感染较少，主要通过污染的食物感染。由于该菌株在动物感染的脏器中形成结合结节，在人的感染部位可形成结核样肉芽肿，故称假结核耶氏菌。

该菌的形态特征和培养特性与小肠结肠炎耶氏菌相似。根据耐热的菌体O抗原将细胞分为6个血清型，其中O1血清型对人类的致病性最强。独立菌株大部分具有V和W抗原。

假结核耶氏菌对豚鼠、家兔、鼠类等有很强的致病性，患病动物的肝、脾、肺和淋巴结等可形成多发性粟粒状结核结节。人类感染多为胃肠炎、肠系膜淋巴结肉芽肿，回肠末端炎等后者的症状与阑尾炎相似，多发生于5～15岁的学龄儿童，并易发展为败血症。少数表现为高热、紫癜，并伴有肝、脾肿大，类似肠伤寒的症状。

假结核耶氏菌的微生物学检查方法与小肠结肠炎耶氏菌类同。标本取粪便、血液和可疑食物等，多采用肠道选择性鉴别培养基，25℃培养48小时，根据生化反应及动力等，做出初步判断，最后用血清学试验进行鉴定。

第四节 弗朗西斯菌属

弗朗西斯菌属（*Francisella*）是一类呈多形性的革兰阴性小球杆菌，本属有土拉弗氏菌和新凶手弗氏菌两个种，其中土拉弗氏菌（*F.tularensis*）包括4个亚种，对人类致病。

土拉弗氏菌首先在美国加州土拉地区黄鼠中分离出，并由Edward Francis作了系统研究，故名。本属分A、B两个生物型，所引起的疾病称为土拉热，可引起一些野生动物的感染，特别常见于野兔中，故由该菌引起的疾病又称为野兔热，人类常因接触野生动物或病畜而感染得病。

（一）生物学性状

形态与染色 通常为形态微小的球杆状，大小为宽0.2～0.3μm，长0.3～0.7μm，经人工培养后呈现诸多形态性，有两极浓染现象。无芽胞，无动力，在动物组织内形成荚膜。

培养特性 专性需氧，营养要求不高，在普通培养基上不易生长，常用含高铁血红素的巧克力

琼脂，Thayer-Martin琼脂培养基，胱氨酸血琼脂和缓冲碳酵母浸膏琼脂等培养基，在35～37℃有CO_2条件下培养2～5天形成灰白色细小，光滑，略带黏性的菌落。

抵抗力　对热敏感，56℃ 5～10分钟即死亡。对一般化学消毒剂敏感。但对低温有很强的耐受力，在20～25℃水中可存活1～2个月，在4℃水中或湿土中可存活4个月，在0℃以下可存活9个月。

（二）致病性与免疫性

致病性　土拉弗氏菌的储存宿主主要是家兔和野兔（A型）以及鼠类等啮齿动物（B型）。A型是导致兔子死亡及对人类引起严重的疾病，甘油发酵试验为阳性，主要经蜱，蚊，蚤，虱等吸血节肢动物叮咬传播，B型是不会导致兔子死亡，对人类引起温和性疾病，被啮齿动物污染的地表水是重要传染源。家禽也可能作为本菌的储存宿主。人类对土拉弗氏菌易感，可通过直接接触患病的动物或被动物咬伤、节肢动物叮咬、食人污染食物等途径感染，亦可经呼吸道感染。

土拉弗氏菌的致病物质主要是荚膜和内毒素。侵人力很强，能穿过完整皮肤和黏膜。人通过皮肤或呼吸道吸入50个细菌即可致病。但经口感染则需要大量的细菌才能发病。另外，菌体多糖抗原可引起速发型超敏反应，蛋白质抗原可引起迟发型超敏反应等也参与致病。

人感染2～6天内，发生炎症和溃疡，致病性强，发病较急。在节肢动物叮咬处，以局部溃疡、淋巴结肿大为特征。还引起支气管炎和局部性肺炎（肺土拉菌病）等。被感染的手指或污染物接触结膜而引起眼腺性土拉菌病，出现浅黄色肉芽肿病变，并伴有耳前腺病。土拉菌病还有腺型土拉菌病（淋巴结病）、口咽型土拉菌病和伤寒型土拉菌病（败血病）等类型。临床表现主要为发热、全身乏力、剧烈头疼，关节痛等。

免疫性　病后2～3周出现IgM和IgG抗体，可持续存在多年，但无保护作用。土拉弗氏菌为细胞内寄生菌，抗感染以细胞免疫为主。

（三）微生物学检查法与防治原则

取患者血液，组织穿刺或活检组织检查。标本革兰染色镜检的价值不大，可用免疫荧光染色镜检，但与军团菌、布鲁菌等有交叉反应，应注意假阳性的出现。分离培养较困难，可接种于卵黄培养基或胱氨酸葡萄糖血琼脂，37℃培养至少需3周。除观察典型菌落外，可取培养物用本菌的抗血清作薄片凝集试验进行鉴定。血清学实验是土拉热诊断最常用的方法，在病程中血管凝集效价呈4倍或以上增长或单份血清效价达1∶160才有诊断意义。

由于该菌具有很强的感染性，在实验操作过程中尤其要注意防止实验室感染。提高警惕性是预防的关键，预防可用减毒活疫苗经皮肤划痕接种。可用链霉素或庆大霉素等治疗，治疗时间为10天左右，该菌对β-丙酰胺类抗生素有抗性。

展　望

炭疽芽胞杆菌　2001年9月，美国遭遇的炭疽恐怖袭击事件引起了全球的关注。炭疽芽胞杆菌容易培养，其芽胞稳定，发达国家的人群普遍缺少自然免疫力。感染炭疽芽胞杆菌后将引起严重的呼吸道吸入性感染疾病、胃肠道感染疾病等。因此，快速检验和鉴定炭疽芽胞杆菌非常重要，这将指导人们正确实施防治方案。

由炭疽芽胞杆菌产生的炭疽毒素包括了三个组分的蛋白质，水肿因子和致死因子分别是钙依赖性腺苷环化酶和钙依赖性金属蛋白酶，保护性抗原与宿主细胞表面受体结合并将水肿因子或致死因子介导进宿主细胞内，发挥毒性作用。在哺乳动物细胞表面已经发现有两种炭疽毒素受体，这为进一步对炭疽毒素的研究提供了新靶位。目前人们正在研制新型的炭疽疫苗。

鼠疫耶氏菌　鼠疫是一种通过跳蚤在啮齿动物之间传播的疾病，人类可能因被跳蚤叮咬而感染鼠疫。2004年12月在刚果（金）东部一钻石矿暴发肺鼠疫，这类肺鼠疫可导致人与人之间传播，死亡率高。造成500余人感染，死亡人数近100人。

鼠疫是我国重点监控的自然疫源性传染病，近数十年我国在防治鼠疫方面已经取得显著成绩，但一些局部地区尚有鼠疫的散在发生。2004年10月，在我国青海发生人间鼠疫疫情，确诊鼠疫病例19例，其中死亡8例，主要因猎捕或剥食旱獭被感染。

鼠疫耶氏菌的全基因序列测定已被完成，染色体含有约4000个编码序列，同时染色体内还含有大量的插入序列，插入序列的总长度甚至可达到整个基因组的3.7%，比其他细菌的插入序列数量更高。因此，鼠疫耶氏菌的基因组能不断地发生动态性变化。鼠疫耶氏菌通过自发或诱发性突变及基因转移等机制发生变异，其生化特性、毒力、耐药性和抗原构造等均可出现变异。与多数肠道菌光滑（S）型菌落致病性强的特征不同，野生菌株的菌落呈粗糙（R）型，毒力强。经人工传代培养后菌落渐转变为S型，其毒力也随之减弱。从我国青海、西藏和新疆等地分离的鼠疫耶氏菌，经分析后也表明各具有独特的分子生物学特征。

我国国内生产用EV鼠疫活疫苗，免疫原性有所减弱，需要改进和提高疫苗菌株的免疫原性。由于现今注册的疫苗有局限性，需要进一步开发鼠疫疫苗。由重组的保护性抗原 rF1+rV所构成的亚单位疫苗，经免疫豚鼠后，可抵抗鼠疫耶氏菌105cfu的攻击。有学者在BALB/C小鼠筛选出了表达鼠疫耶氏菌V抗原的DNA疫苗载体，成功选择出带有一个附加转译增强子下游的CMV启动子，所构建的鼠疫耶氏菌V抗原DNA疫苗，能提供抗鼠疫保护效果。还有学者用鼠疫耶氏菌荚膜蛋白F1多肽，采用脂质体作为提呈载体，所构建的鼠疫肽疫苗在小鼠体内显示出较高的免疫原性。

（德力夏提）

第十四章　与医学相关的其他细菌

本章扼要介绍与医学相关的其他细菌，主要包括一些重要的非发酵革兰阴性菌（如假单胞菌、不动杆菌、窄食单胞菌和军团菌）、棒状杆菌属（如白喉棒状杆菌）、嗜血杆菌属（如流感嗜血杆菌）、鲍特菌属（如百日咳鲍特菌）和气单胞菌属细菌等，他们各有其独特的生物学特性。

Pseudomonas

Pseudomonas is widely distributed in soil, water, plants, and animals and is also frequently present in small numbers in the normal intestinal flora and on the skin of humans. *P. aeruginosa* is the most common clinically significant *pseudomonas*, which can cause opportunistic infections.

Most *P aeruginosa* isolates from clinical infections produce extracellular enzymes, including elastases, proteases, and two hemolysins: a heat-labile phospholipase C and a heat-stable glycolipid. The exotoxin A which is produced by many strains of *P aeruginosa* may cause tissue necrosis. The toxin blocks protein synthesis in the same way as that of diphtheria toxin, though the structures of the two toxins are not identical. *P aeruginosa* causes infection of wounds and burns, which may have blue-green pus; meningitis, when introduced by lumbar puncture; and urinary tract infection, when introduced by catheters and instruments or in irrigating solutions. Infection of the respiratory tract, especially from contaminated respirators, results in necrotizing pneumonia. The bacterium is often found in mild otitis externa in swimmers. In diabetic patients, it may cause invasive otitis externa. Infection of the eye may occur most commonly after injury or surgical procedures and lead to rapid destruction of the eye. *P aeruginosa* may invade the bloodstream and result in fatal sepsis in infants or debilitated persons; this occurs commonly in patients with leukemia or lymphoma after receiving antineoplastic drugs or radiation therapy and in patients with severe burns.

Because of its resistant to many antibiotics, the treatment of *P aeruginosa* infections should be tailored to the sensitivity test and monitored frequently.

Acinetobacter

Acinetobacter species are aerobic gram-negative bacteria, which occur widely in soil and water and can occasionally be cultured from skin, mucous membranes, secretions, and the hospital environment, thereby it is an important source of infection in debilitated patients. Most infections occur in immunocompromised patients. *Acinetobacter* is frequently isolated in nosocomial infections and is especially prevalent in intensive care units. *A. baumannii* is a frequent cause of nosocomial pneumonia, especially of late-onset ventilator associated pneumonia. It can cause various other infections such as skin and wound infections, bacteremia, and meningitis, etc.

Stenotrophomonas maltophilia

Stenotrophomonas maltophilia is an obligate aerobic, gram-negative rod that is widely found in the environment. *S. maltophilia* is an increasingly important cause of hospital-acquired infections in immunocompromised patients and in patients who are receiving antimicrobial therapy. It has been isolated

from respiratory tract secretions, urine, skin wounds, and blood and so on. The isolates are often part of mixed flora present in the specimens. If blood cultures are positive, it is commonly in association with use of indwelling plastic intravenous catheters. The widespread use of the drugs to which *S. maltophilia* is resistant plays an important role in the increased frequency with which it causes disease.

Legionella

Legionellae are fastidious, aerobic gram-negative bacteria, which can be grown on complex media such as buffered charcoal-yeast extract (BCYE) agar, at pH 6.9, temperature 35℃, and 90% humidity. There are more than ten serogroups of *L pneumophila*. The serogroup 1 of *L pneumophila* was the cause of the outbreak of Legionnaires' disease in 1976 and remains the most common serogroup isolated from humans. *Legionellae* are ubiquitous in warm moist environments. Infection in debilitated or immunocompromised patients commonly follows inhalation of the bacteria from aerosols generated from contaminated air-conditioning systems, shower heads, and similar sources. *L pneumophila* usually causes a lobar, segmental, or patchy pulmonary infiltration.

Corynebacterium Diphtheriae

Corynebacteria possess irregular swellings at one end that give them the "club-shaped" appearance. When some nontoxigenic diphtheria bacilli are infected with bacteriophage which contains toxigenic genes, the offspring of the exposed bacteria are lysogenic and toxigenic. All toxigenic *C. diphtheriae* are capable of producing diphtheria toxin, which is absorbed into the mucous membranes and causes destruction of epithelium and a superficial inflammatory response. A grayish "pseudomembrane" is formed commonly over the tonsils, pharynx, or larynx when the necrotic epithelium becomes embedded in exuding fibrin and red and white cells. Any attempt to remove the pseudomembrane may result in bleeding. The diphtheria toxin is absorbed and causes distant toxic damage, including heart muscle, liver, kidneys, and adrenals, sometimes accompanied by gross hemorrhage. The toxin also produces nerve damage, resulting often in paralysis of the soft palate, eye muscles, or extremities.

The treatment of diphtheria depends largely on rapid suppression of toxin-producing bacteria by antimicrobial drugs and the early administration of specific antitoxin.

Haemophilus

Haemophilus is a group of small, gram-negative, pleomorphic bacteria that require enriched media, in which usually contains blood or its derivatives, for isolation. Identification of organisms of the haemophilus group depends in part upon demonstrating the need for X and V factors. *Haemophilus influenzae* is found on the mucous membranes of the upper respiratory tract in humans. Type b *H influenzae* causes meningitis, pneumonia and empyema, epiglottitis, cellulitis, septic arthritis, and occasionally other forms of invasive infection. Nontypeable *H influenzae* may cause chronic bronchitis, otitis media, sinusitis, and conjunctivitis if breakdown of normal host defense mechanisms.

By administration of Haemophilus b conjugate vaccine to children, *H influenzae* type b infection can be prevented and the carrier rates for *H influenzae* type b also decreases. The incidence of *H influenzae* type b meningitis in children has reduced by widespread use of *H influenzae* type b vaccine.

Bordetella pertussis

There are several species of bordetella. *Bordetella pertussis* is a highly communicable and important pathogen of humans and causes whooping cough (pertussis). The number of the virulence factors produced by *B. pertussis*, are involved in the pathogenesis of disease. Pertussis toxin promotes lymphocytosis, sensitization to histamine, and increase insulin secretion and has ADP-ribosylating activity. The filamentous hemagglutinin mediates adhesion to ciliated epithelial cells. Pili probably play a

role in adherence of the bacteria to the ciliated epithelial cells of the upper respiratory tract. The tracheal cytotoxin blocks DNA synthesis in ciliated cells. The bacterial lipopolysaccharide may also be important in causing damage to the epithelial cells of the upper respiratory tract.

During "catarrhal stage", large numbers of *Bordetella pertussis* are sprayed in droplets, and the patient is highly infectious. During the "paroxysmal" stage, the cough develops its most important character and displays "whoop" upon inhalation, which results in rapid exhaustion and may be associated with vomiting, cyanosis, and convulsions. There are two vaccines available: an acellular vaccine containing purified proteins from the organism and a killed vaccine containing inactivated *B. pertussis*.

Aeromonas

Aeromonas are gram negative rods, which are widely distributed in water, soil, and animal and human feces. *Aeromonas* species are distinguished from the enteric gram-negative rods by finding a positive oxidase reaction in growth obtained isolates from a blood agar plate. *A. hydrophila*, *A. caviae*, and *A. veronii biovar sobrid* are of primary clinical importance in human infections. *A. hydrophila* is chiefly in water supplies and causes diarrhea, wound infections, and sepsis, especially in immunocompromised humans. It is believed that the pathogenicity of *Aeromonas* spp. is mediated by a number of extracellular proteins produced by the bacteria, such as aerolysin, proteinase, pili, transferrin and outer membrance protein and so on.

第一节 非发酵革兰阴性杆菌

非发酵革兰阴性杆菌（nonfermentative gram-negative bacilli, NFGNB）是指一群不发酵葡萄糖或仅以氧化形式利用葡萄糖的需氧或兼性厌氧、无芽胞的革兰阴性杆菌。它不是严格分类学的命名，只是由于在生化反应上具有某些共同特征而被沿用至今。主要包括假单胞菌属、不动杆菌属、窄食单胞菌属、军团菌属、伯克霍尔德菌属、黄杆菌属和产碱菌属等。近年来，随着新型抗菌药物和介入性治疗技术的广泛应用，非发酵革兰阴性杆菌已成为医院感染的重要病原菌，对多种抗生素耐药，治疗十分困难，因而日益受到重视。

一、假单胞菌属

假单胞菌属（*Pseudomonas*）是一群革兰阴性的需氧小杆菌，有端鞭毛或丛鞭毛，无芽胞。有些产生水溶性色素。迄今已发现150多余种，广泛分布于水、土壤、植物和动物中。其中常见的对人类致病菌包括铜绿假单胞菌、鼻疽假单胞菌、类鼻疽假单胞菌、荧光假单胞菌和产碱假单胞菌等，主要引起机会性感染。本节对其中最为重要的铜绿假单胞菌进行重点介绍。

铜绿假单胞菌（*P. aeruginosa*）在生长过程中能产生绿色水溶性色素，感染后使脓汁出现绿色，故俗称绿脓杆菌。广泛分布于自然界，在医院里的潮湿环境中普遍存在，也能从人体皮肤、肠道和呼吸道内检出，是常见的条件致病菌。

生物学性状　革兰阴性杆菌，大小约宽0.5～1.0μm，长1.5～3.0μm。无芽胞，有1～3根单端鞭毛，运动活泼。临床分离的菌株常有菌毛和微荚膜。

在普通培养基上生长良好。专性需氧，最适生长温度为35℃。固体培养基上生长的菌落大小不一，扁平湿润，边缘不齐，可产生多种水溶性色素，主要为绿脓素（pyocyanin）和青脓素（pyoverdin）或称荧光素（fluorescein），这些色素扩散入培养基而使培养基呈蓝绿色或黄绿色。另外，尚有少数菌株可产生红脓素（pyorubin）、黑脓素（pyomelanin），也有不产色素的菌株。

本菌虽为非发酵型细菌，但能氧化分解葡萄糖、核糖、葡萄糖酸盐等几种糖。根据细菌色素和氧化酶阳性的特性可与肠道杆菌科细菌相区别。

抵抗力较强，在潮湿环境中存活时间较长。对干燥、紫外线和醛类、汞类和表面活性剂等化学消毒剂有一定的抵抗力。加热需56℃ 1小时才可杀死细菌。能抵抗多种抗生素，有些菌株具有多重耐药的特性。

致病性　铜绿假单胞菌主要致病物质见表14-1。

表14-1　铜绿假单胞菌的主要致病物质

致病物质	生物学活性
黏附素	对宿主细胞具有黏附作用
荚膜多糖	抗吞噬作用
内毒素	致发热、休克、DIC等
外毒素A	抑制蛋白质的合成，引起组织坏死
杀白细胞素	损伤中性粒细胞和淋巴细胞
弹性蛋白酶	降解弹性蛋白，引起肺实质损伤和出血
溶血素（磷脂酶C和卵磷脂酶）	分解脂质和卵磷脂，损伤组织细胞膜
胞外酶S	ADP-核糖转移酶，可促进铜绿假单胞菌的侵袭扩散

铜绿假单胞菌是引起医院感染的重要病原菌，几乎可以感染人体的任何组织和部位。原发性皮肤感染常见于烧伤和创伤患者，在皮肤感染局部会出现蓝绿色脓液。严重烧伤者的伤口感染导致血管损伤和组织坏死，甚至出现败血症。感染频繁发生于免疫力低下者，如免疫抑制性疾病（白血病、AIDS等）、服用免疫抑制剂、化疗药物或激素的患者，也经常发生于使用介入性临床诊疗措施时，如长期留置导尿管可引起泌尿道感染；使用污染的人工呼吸装置会导致坏死性肺炎，这种感染是囊性纤维化肺病患者的主要死亡原因。另外还有眼和耳等部位的感染、心内膜炎、脑膜炎甚至致死性败血症。

微生物学检查与防治　可根据感染部位、疾病类型或检测目的，采取脓液、炎症渗出液、血液或可疑物品等标本，接种于血琼脂平板，根据其菌落特征、色素和生化反应等鉴别。进一步鉴定可采用血清学试验、噬菌体分型等方法。

为预防和控制铜绿假单胞菌的院内交叉感染，医院应加强诊疗器械和医院环境的消毒管理。铜绿假单胞菌易形成耐药性，应根据药物敏感试验指导用药。可选用氨基糖苷类和β-内酰胺类抗生素联合治疗。

二、不动杆菌属

不动杆菌（*Acinetobacter*）为专性需氧的革兰阴性球杆菌，单个、成双或呈短链排列，无鞭毛，不能运动，无芽胞，有荚膜。革兰染色不易脱色。本菌属分为16个菌种，从临床标本被分离到的菌种有：醋酸钙不动杆菌（*A. calcoaceticus*）、鲁菲不动杆菌（*A. lwoffi*）、鲍曼不动杆菌（*A. baumanii*）、溶血不动杆菌（*A. haemolytius*）、琼氏不动杆菌（*A. junii*）和约翰逊不动杆菌（*A. johnsonii*）等。其中鲍曼不动杆菌最为常见。

鲍曼不动杆菌广泛分布于自然界，也存在于人体皮肤、呼吸道、消化道和泌尿生殖道黏膜。喜好温暖和潮湿的环境，可在水、土壤、食物（如水果、蔬菜）和下水道污物中生存。在医院内的推车、水槽、床垫、吸痰器、空气加湿器，甚至于空气中等皆可发现鲍曼不动杆菌，使用呼吸机的重症病房内尤为多见。甚至于医务人员的手都有可能成为感染的来源。是院内感染的重要致病菌之一。烧伤、严重原发病患者、免疫缺陷患者、气管插管或切开或使用呼吸机的危重患者容易感染，可引起皮肤伤口感染、泌尿生殖系统感染、肺部感染、脑膜炎和败血症等。

由于临床上使用抗生素的种类和数量的增加，特别是广谱抗生素的使用，使不动杆菌的耐药性不断增强，耐药菌株逐年增多且出现多重耐药现象，导致难治性感染甚至引起死亡。治疗可用庆大

霉素、阿米卡星或妥布霉素，或通过药物敏感试验选用有效药物。

三、嗜麦芽窄食单胞菌

嗜麦芽窄食单胞菌（*Stenotrophomonas maltophilia*）是需氧的非发酵革兰阴性细菌，属于假单胞菌科的rRNA同源V群。1958年首先从口腔癌患者的口咽拭子中分离得到，命名为嗜麦芽假单胞菌（*Pseudomonas maltophilia*）。1981年转入黄单胞菌属，命名为嗜麦芽黄单胞菌（*Xanthomonas maltophilia*）。1993年新建窄食单胞菌属，现已发现5个菌种，其模式菌为嗜麦芽窄食单胞菌。

嗜麦芽窄食单胞菌为革兰阴性杆菌，大小约长0.7～1.8μm，宽0.4～0.7μm，有丛鞭毛，因此具有动力。无芽胞，无荚膜。该菌严格需氧，最适生长温度是35℃。血琼脂平板和普通营养琼脂培养基上生长良好。在血平板上生长出的菌落呈现黄色，产生强烈氨味。过氧化氢酶阳性，氧化酶阴性，赖氨酸脱羧酶阳性，能氧化分解麦芽糖。

嗜麦芽窄食单胞菌在自然界分布广泛，不但可从多种水源（包括河水、污水和自来水等）、土壤、植物和动物体中检出，也存在于正常人的口咽和肠道。该菌频繁定植在气管插管、尿管和中央静脉插管等介入式医疗器械。其临床分离率呈上升趋势，成为越来越重要的条件致病菌和医院感染菌。在接受抗生素、激素、化疗药物和免疫抑制剂治疗的患者，可引起呼吸道感染、尿道感染、皮肤和软组织感染、菌血症、心内膜炎、中枢神经系统感染、眼部感染、骨和关节感染及胃肠道感染等。

迄今为止，对嗜麦芽窄食单胞菌可能的毒力因子知之甚少。已知该菌产生DNA酶、RNA酶、纤维蛋白溶酶、脂肪酶、透明质酸酶、蛋白酶胞和弹性蛋白酶，这些酶可能参与了该菌的发病机制。

嗜麦芽窄食单胞菌对亚胺培南（泰能）天然耐药，不应选用。对目前常使用的多种广谱抗生素耐药，如包括碳青霉烯类在内的β-内酰胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类等，其耐药机制可能与含有β-内酰胺酶、细菌的靶位改变和外膜通透性低等因素有关。临床首选磺胺类药物。

四、军团菌属

军团菌属（*Legionella*）广泛分布于自然界，特别是温暖潮湿的环境。在天然水源、人工冷水及热水系统中分布最多。现已发现39个菌种、3个亚种和61个血清型，已从人体分离出19个菌种。对人的主要致病菌为嗜肺军团菌（*L. pneumophila*）。在1976年美国费城的一次退伍军人大会期间，暴发了一种原因不明的肺炎。在约3000个与会者中，有221人发病，34人死亡，死亡率15.4%，因此称为军团病或退伍军人症。从死亡者的肺部标本中分离出一种新的革兰阴性菌，该菌在1978年召开的军团菌国际会议上被命名为嗜肺军团菌。此后，世界上许多国家均有军团菌病的发生，每次暴发都引起广泛关注。至今在我国已有十余起暴发流行。本节中以嗜肺军团菌作为模式菌介绍。

生物学性状　革兰阴性球杆菌，宽为0.3～0.9μm，长2～20μm。从临床标本初次分离为1～2μm的球杆状，但人工培养基上培养后呈现长丝状。用常规染色不易着色，多用镀银法或Giemsa法染色，分别染成黑褐色和红色。有端生或侧生鞭毛和菌毛，有微荚膜，无芽胞。

专性需氧菌，2.5%～5%CO_2可促进生长，最适生长温度为35℃。对营养要求较特殊，初次分离需L-半胱氨酸，培养基中含铁盐则可促进生长。该菌生长缓慢，在活性炭-酵母浸出液琼脂（BCYE）培养基中，3～5天形成1～2mm的圆形凸起，灰白色有光泽的菌落。在F-G（Feeley-Garman）琼脂培养基中，培养3～5天可见针尖大小菌落，在紫外线照射下可发出蓝色荧光。在含L-酪氨酸-苯丙氨酸琼脂平板上产生棕色水溶性色素。触酶阳性，能分解尿酸盐。

嗜肺军团菌有O和H抗原，根据O抗原将本菌分为15个血清型，其中1型就是1976年军团病的病原菌，也是从人群分离到的最常见的血清型。我国主要流行的是1型（LP1）和6型（LP6）。在LP1～LP10血清型菌株都具有29 kD外膜蛋白，为刺激机体免疫应答的主要免疫原。

嗜肺军团菌的抵抗力较强，在蒸馏水中可存活100天以上，在下水道可存活1年。对热和化学消毒剂敏感，1%甲酚皂（来苏儿）处理数分钟即可被杀死。

致病性与免疫性　嗜肺军团菌可引起军团病，主要通过呼吸道吸入带菌飞沫或气溶胶而感染，多流行于夏秋季。嗜肺军团菌的微荚膜具有抗吞噬作用，菌毛黏附到宿主细胞表面，介导细菌侵入细胞。毒素和多种酶类能抑制吞噬体与溶酶体融合，使细菌在吞噬细胞内生长繁殖而导致细胞的死亡。军团病包括流感样型（轻型）、肺炎型（重病型）和肺外感染三种临床类型。①流感样型又称庞地亚克热（Pontiae fever），由于流行于美国密执安州的庞地亚克市而得名。患者可出现发热、寒战、头痛和肌肉痛，一般无需治疗，预后良好；②肺炎型军团病起病骤然，出现以肺部感染为主的多器官损害，寒战高热、咳嗽、胸痛，全身症状明显，最终导致呼吸衰竭，如不及时治疗会引起死亡；③肺外感染型军团病为继发性感染，当重症军团病发生菌血症时细菌可散布至全身多部位，如脑、肠、肾、肝、脾等，出现多脏器感染。嗜肺军团菌亦是医院内感染的病原菌之一。近年来，有许多关于嗜肺军团菌污染中央空调、冷却塔水后而导致医院内感染的报道。

嗜肺军团菌系胞内寄生菌，细胞免疫应答在保护性免疫中具有重要意义。

微生物学检查与防治　收集支气管灌洗液、胸水或肺活检组织等标本在BCYE培养基上分离培养并鉴定细菌；可对细菌进行血清学分型；荧光抗体染色具有诊断意义。患者感染期间血清中的特异性抗体IgG上升缓慢，较少用于临床诊断，但对军团菌暴发感染的群体回溯研究有意义。还可采用PCR技术快速检测细菌核酸。

目前尚无嗜肺军团菌疫苗可用于免疫预防。治疗首选红霉素。

嗜肺军团菌常污染人工输水管道。在医院空调冷却水、淋浴头、辅助呼吸机等所产生的气溶胶颗粒中常检出此菌。因此，应加强对水源、输水管道等的消毒，预防军团菌引起水源和空气污染。

第二节　棒状杆菌属

棒状杆菌属（*Corynebacterium*）是一群革兰染色阳性杆菌，因其菌体一端或两端常呈棒状膨大而得名。本属细菌种类多，与人类有关的主要有白喉棒状杆菌、假白喉棒状杆菌、微小棒状杆菌、溃疡棒状杆菌、结膜棒状杆菌和痤疮棒状杆菌等，其中大多数为条件致病菌。白喉棒状杆菌（*C. diphtheriae*）俗称白喉杆菌，致病性强，能产生强烈的外毒素而引起白喉。以下介绍白喉棒状杆菌。

一、生物学性状

形态与染色　菌体细长、微弯曲，菌体一端或两端稍膨大呈棒状，排列不规则，常呈L、V、Y形或呈栅栏状。革兰染色阳性，亚甲蓝（美蓝）短时间染色时，菌体着色不均匀，出现浓染的颗粒。用Neisser或Albert等染色法，这些颗粒呈蓝黑色，与菌体着色不同，称为异染颗粒（metachromatic granule）（图14-1）。颗粒的主要成分是核糖核酸和多偏磷酸盐，对鉴别细菌有重要意义。但当细菌衰老时，异染颗粒被消耗而不明显，且细胞壁变薄易被脱色，常造成革兰染色不定，有时在革兰阴性菌体中见有阳性颗粒或节段。

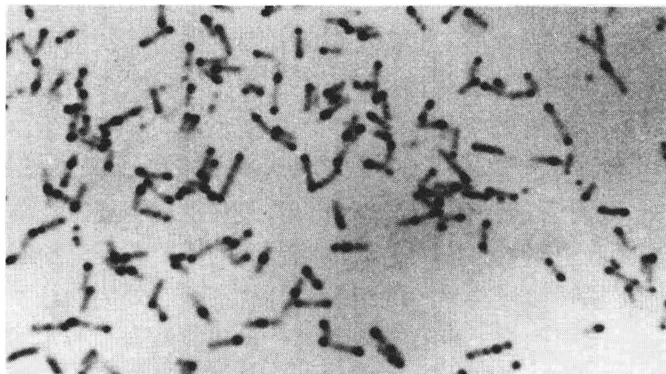


图14-1　白喉棒状杆菌的异染颗粒（Albert染色 ×1200 贾文祥提供）

培养特性 需氧或兼性厌氧。在普通培养基上虽可生长，但形态不典型。在含有凝固血清的吕氏培养基（Loeffler medium）上生长迅速，形成灰白色、圆形的菌落，菌体形态典型，异染颗粒明显。含有0.03%～0.04%亚碲酸钾（$K_2TeO_2·3H_2O$）血琼脂平板可作为鉴别选择培养基，因白喉棒状杆菌能吸收亚碲酸盐使其还原为黑色的金属碲，形成黑色或灰色菌落，亚碲酸钾还能抑制其他杂菌生长。白喉棒状杆菌在亚碲酸钾血琼脂平板上形成三种不同形态特征的菌落，分别称为重型、轻型和中间型。①重型：菌落大，灰色，表面光滑，无光泽，边缘不规则并且有条纹，一般不溶血；②中间型：菌落小，灰黑色，表面光滑或有微细颗粒状，边缘比较整齐，不溶血；③轻型：菌落小，黑色，表面光滑有光泽，边缘整齐、溶血。三型的产毒株均具有致病性。但型别鉴定有助于流行病学分析，如我国主要以轻型多见。

抵抗力 白喉棒状杆菌对寒冷、干燥和日光的抵抗力较其他无芽胞细菌强。在物品（如玩具）、食物及衣服上能存活数日至数周。对湿热较敏感，一般在58℃ 10分钟或煮沸1分钟死亡。对常用消毒剂抵抗力弱，5%苯酚中1分钟可被杀死。对青霉素、氯霉素、红霉素敏感；对磺胺、卡那霉素、庆大霉素不敏感。

二、致病性

致病物质 包括白喉毒素、索状因子和K抗原。白喉棒状杆菌侵入机体后，仅在上呼吸道局部生长，细菌产生的白喉毒素入血，可引起机体多器官坏死性损伤。白喉毒素是该菌的主要致病物质。

1. 白喉毒素（diphtheria toxin） 当β-棒状噬菌体侵入白喉棒状杆菌后，其编码的*tox*基因即可整合到宿主菌染色体上，使原来无毒的白喉棒状杆菌转变为产毒的白喉棒状杆菌。白喉毒素分子是一条含有535个氨基酸残基、相对分子质量为$62×10^3$的多肽链，由双硫键连接的A、B两个片段组成。用胰酶和尿素等处理可将双硫键裂解而获得A和B两个片段。A片段是白喉毒素的毒性功能区，由193个氨基酸残基组成，相对分子质量为$24×10^3$，耐热，耐蛋白酶的作用；B片段由342个氨基酸残基组成，相对分子质量为$38×10^3$，B片段不稳定，尤其对酸敏感。B片段有两个功能区，1个位于C末端，是与细胞受体的结合区；另一个位于N末端，是嵌入细胞膜、促使A片段进入细胞质的转位区。许多真核细胞，特别是心肌和神经细胞上都具有这种毒素的受体，可解释严重的白喉患者常伴有中毒性心肌炎和神经症状的原因。白喉毒素B片段首先与宿主细胞受体结合，并经B片段转位区的介导，使A片段释放到宿主胞质内。A片段进入细胞后，可促使辅酶Ⅰ（NAD）上的腺苷二磷酸核糖（ADPR）与肽链合成中必需的延伸因子2（elongation factor-2，EF-2）结合，使EF-2失活，阻断蛋白质的合成，引起细胞功能障碍。

2. 索状因子 细胞表面的一种毒性糖脂，即海藻糖-6-6′双分枝菌酸。它可破坏哺乳细胞的线粒体，干扰细胞呼吸与磷酸化。

3. K抗原 细胞壁外表面的一种不耐热糖蛋白，具有抗吞噬作用，有利于白喉棒状杆菌在黏膜表面的定植。

所致疾病 白喉棒状杆菌是严格寄生于人类的细菌，患者及带菌者是主要的传染源。人群对白喉普遍易感，儿童发病率最高。细菌通过患者及带菌者的飞沫传播，也可以由污染的物品直接接触而感染。感染后细菌在鼻腔及咽喉部黏膜上生长繁殖，分泌的白喉毒素可侵入全身，引起局部炎症及全身中毒症状。感染局部在细菌和毒素的作用下，炎细胞浸润、纤维蛋白原渗出以及黏膜上皮细胞坏死，在咽喉部出现白色斑点，可融合为片状形成白色膜状物，即假膜（pseudomembrane）。此假膜与黏膜下组织紧密粘连，强行剥离可引起出血。若假膜扩展至气管、支气管黏膜，可因局部黏膜水肿和假膜脱落而引起呼吸道阻塞，成为白喉早期致死的主要原因。白喉杆菌本身一般不侵入血流，但被吸收的外毒素则可通过血液与易感的组织如心肌细胞、外周神经及肾上腺组织结合，引起各种临床表现，如心肌炎、软腭麻痹、声音嘶哑和肾上腺功能障碍等。大约有2/3患者的心肌受损，多发生在病后2～3周，成为白喉晚期致死的主要原因。此外，白喉棒状杆菌偶可侵害眼结膜、外耳道、

阴道和皮肤创口等处，并能形成假膜。

免疫性　在白喉病后、隐性感染或经预防接种后，机体均可获得特异性免疫力。其免疫力主要依靠白喉抗毒素对毒素的中和作用。

调查人群对白喉的免疫力可用锡克试验（Schick test）。该试验是根据毒素抗毒素中和原理，以少量白喉毒素作皮内注射，测定机体是否具有对白喉免疫力的一种方法。但由于观察时间较长，现已很少采用。

三、微生物学检查法

1. 标本采集　用无菌棉拭子从患者病变部位假膜及其边缘取材。

2. 直接涂片镜检　将棉拭子标本直接涂片，用美蓝或Albert染色后镜检。若找到有白喉棒状杆菌典型形态、排列及异染颗粒者，结合临床即可做初步诊断，以便及时治疗。

3. 分离培养　将棉拭标本接种于含有凝固血清的吕氏斜面培养基上，经37℃，6～12小时增菌后作涂片镜检，检出率比直接涂片高，有助于快速诊断。延长培养至18小时，则可见灰白色菌落，可进一步作生化反应和毒力鉴定。

4. 毒力试验　是鉴别产毒白喉棒状杆菌的重要试验。检测方法分体外与体内两类。

体外法简便易行，结果敏感，Elek平板法是常用的方法。在含有20%马血清的琼脂蛋白胨培养基平板中央，放上一条浸有白喉抗毒素（约1000U/ml）的滤纸条，沿滤纸条垂直方向接种待检菌和一已知产毒菌株。37℃培养24～48小时，产毒株则在滤纸条与菌苔交界处出现白色沉淀线。无毒菌株不产生沉淀线。此外，PCR法、免疫层析试条法、对流免疫电泳法或SPA协同凝集法也可用于检测待检菌培养上清中的毒素。

体内法是通过动物体内试验测定细菌毒力。可将待检菌的培养液注入实验组豚鼠皮下，对照组豚鼠于12小时前腹腔注射白喉抗毒素500U后，再皮下注射待检菌培养物。若2～4天后实验组动物死亡而对照组存活，则表明待检菌能产生白喉毒素。

四、防治原则

特异性预防有人工主动免疫和人工被动免疫两种。注射白喉类毒素是预防白喉的主要措施。我国自推行白喉类毒素的预防接种以来，白喉发病率显著降低。目前国内外均应用白喉类毒素、百日咳疫苗和破伤风类毒素混合制剂（简称为白百破三联疫苗）进行人工主动免疫，效果良好。对密切接触白喉病人的易感儿童需肌肉注射白喉抗毒素进行紧急预防，同时注射白喉类毒素以延长免疫力。为避免用马血清制备的白喉抗毒素引发超敏反应，在注射前需作皮肤试验。

对白喉患者的治疗，除选用敏感抗生素如青霉素、红霉素等进行抗菌治疗，还应尽早注射足量的白喉抗毒素，以直接中和体内的毒素。

第三节　嗜血杆菌属

嗜血杆菌属（*Haemophilus*）是一类无芽胞、无鞭毛的革兰阴性小杆菌，常呈多形态。本属细菌有21个种。在人工培养时所需营养要求高，需加新鲜血液成分（主要含X和V因子）才能生长，故名嗜血杆菌。X因子是一种对热稳定的血红素及其衍生物，为细菌合成过氧化酶、过氧化氢酶、细胞色素氧化酶等呼吸酶的辅基，供细菌氧化还原时进行电子传递。V因子是一种对热不稳定的维生素B类物质，即烟酰胺腺嘌呤二核苷酸（NAD，辅酶Ⅰ）或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（NADP，辅酶Ⅱ），是脱氢酶的辅基，在细菌呼吸中起递氢的作用。几种主要的嗜血杆菌的重要性状见表14-2。本节重点介绍模式菌——流感嗜血杆菌。

表14-2 几种主要嗜血杆菌的重要性状

菌 种	所需生长因子		溶血	致病性
	X	V		
流感嗜血杆菌（*H. influenzae*）	+	+	−	原发性化脓感染、继发性肺炎等
副流感嗜血杆菌（*H. parainfluenzae*）	−	+	−	细菌性心内膜炎
杜克雷嗜血杆菌（*H. ducreyi*）	+	−	−	软性下疳
埃及嗜血杆菌（*H. aegyptius*）	+	+	−	流行性眼结合膜炎、儿童巴西紫癜热
溶血性嗜血杆菌（*H. haemolyticus*）	+	+	+	咽喉部正常菌群，大量存在时可引起咽喉炎
副溶血性嗜血杆菌（*H. parahaemolyticus*）	−	+	+	口咽正常菌群，偶引起咽炎、心内膜炎
嗜沫嗜血杆菌（*H. aphrophilus*）	−	−	−	细菌性心内膜炎
副嗜沫嗜血杆菌（*H. paraphrophilus*）	−	+	−	口咽、阴道正常菌群，偶可引起亚急性心内膜炎、脑脓肿、甲沟炎等

流感嗜血杆菌（*H.influenzae*）俗称流感杆菌。它是嗜血杆菌属中对人有致病性的最常见细菌。1892年全球发生流感大流行时，波兰细菌学家Pfeiffer从流感患者鼻咽部分离到一种革兰阴性小杆菌，当时误认为该菌是流感的病原体，故得其名。直到1933年Smith成功分离出流感病毒后，才确定了流感的真正病原，但流感嗜血杆菌这一名称仍沿用至今。该菌是流感时继发感染的常见细菌，还可引起小儿急性化脓性脑膜炎、鼻咽炎、中耳炎等原发化脓性感染和呼吸道感染的重要病原。

生物学性状　革兰阴性小杆菌，大小为宽0.3～0.4μm，长1.0～1.5μm。在急性感染标本中为短杆菌。在恢复期病灶或长期人工传代培养常呈球杆状、长杆状和丝状等多形态。无鞭毛或芽胞，多数有菌毛。有些菌株有荚膜。

本菌需氧或兼性厌氧，最适生长温度为35～37℃，生长要求特殊，需X因子和V因子。因血液中的V因子需经加热后才能从红细胞中释放，故流感嗜血杆菌在巧克力色血平板上生长良好，培养18～24小时后出现无色透明露滴状小菌落，48小时后形成灰白色、光滑、边缘整齐的较大菌落。金黄色葡萄球菌能合成V因子，可促进流感嗜血杆菌的生长。将流感嗜血杆菌和金黄色葡萄球菌在血液琼脂平板上共同培养时，由于金黄色葡萄球菌合成较多的V因子，可促进流感嗜血杆菌的生长。因此，离葡萄球菌菌落越近的流感嗜血杆菌菌落越大，这些菌落被称为“卫星菌落”，此现象称“卫星现象”（satellite phenomenon），可用于流感嗜血杆菌的鉴定。

流感嗜血杆菌荚膜多糖抗原具有型特异性，可将有荚膜的流感嗜血杆菌分为a～f 6个血清型，其中b型流感嗜血杆菌（Hib）致病性最强。另有荚膜缺陷型称为非分型流感嗜血杆菌（nontypable *Haemophilus influenza*，NTHi）。

流感嗜血杆菌的抵抗力较弱，对热、干燥及常用化学消毒剂敏感。加热50～55℃ 30分钟即被杀死，在干燥痰中生存时间不超过48小时。

致病性和免疫性　流感嗜血杆菌的主要致病物质是菌毛、荚膜、内毒素和某些酶。荚膜有抗吞噬作用，是主要的毒力因子。无荚膜的非分型流感嗜血杆菌在健康人上呼吸道的携带率较高。菌毛使细菌黏附于人类口咽部细胞，IgA蛋白酶能水解sIgA，降低黏膜局部的免疫力，有助于细菌在黏膜定植。内毒素在本菌的致病作用尚不清楚。

流感嗜血杆菌所致的疾病有：

1. 原发性感染　多由b型菌株引起急性化脓性感染，如：化脓性脑膜炎、咽喉会厌炎、鼻咽炎、化脓性关节炎及心包炎等。易感者主要是小儿。

2. 继发性感染　多由正常寄居于上呼吸道的无荚膜菌株引起，常在流感、麻疹、百日咳和肺结核等感染后机体免疫力下降时发生。主要引起慢性支气管炎、肺炎、中耳炎、鼻窦炎和结膜炎等。

多见于成年人。

流感嗜血杆菌为胞外寄生菌，感染机体后的保护性免疫以体液免疫为主。抗荚膜多糖的特异性抗体能增强吞噬细胞的吞噬作用、激活补体的溶菌作用。

微生物学检查与防治　可根据感染部位采集鼻咽分泌物、脓汁、血液及脑脊液等标本，直接涂片镜检和分离培养。标本接种于巧克力色血琼脂平板或含脑心浸液的血琼脂，根据其培养特性、卫星现象、生化反应及荚膜肿胀试验等进一步鉴定。乳胶微粒凝集反应检测b型抗原是常用的快速诊断方法。

b型流感嗜血杆菌荚膜多糖疫苗有良好的免疫预防效果，能有效降低幼儿脑膜炎的发病率和流感嗜血杆菌的携带率。

第四节　鲍 特 菌 属

鲍特菌属（*Bordetella*）是一类革兰阴性小球杆菌，传代培养后形态呈多形性。鲍特氏菌属有8个种。其中百日咳鲍特菌（*B. pertussis*）可引起百日咳，副百日咳鲍特菌（*B. parapertussis*）可致急性呼吸道感染，支气管败血鲍特菌（*B. bronchiseptica*）主要感染动物，只偶尔造成免疫缺陷患者的呼吸系统疾病和菌血症。

百日咳鲍特菌俗称百日咳杆菌，人类是百日咳鲍特菌唯一的宿主。随着计划免疫的有效实施，百日咳已不再是引起儿童死亡的主要原因，但在未免疫儿童中，百日咳仍然是威胁生命健康的主要传染病。

生物学性状

1. 形态染色　革兰阴性短杆状或卵圆形球杆菌，无鞭毛，不形成芽胞。用甲苯胺蓝染色时两端着色较深。毒力菌株有荚膜和菌毛。

2. 培养与生化特性　专性需氧，最适培养温度是35℃～36℃。营养要求很高，初次分离需用含甘油、马铃薯、血液的鲍-金培养基（Bordet-Gengou medium），经3～5天培养后形成细小、光滑、隆起、有珠光色泽的菌落，周围有不清晰的溶血环。不发酵糖类，不产生硫化氢，不利用枸橼酸，不分解尿素，触酶阳性，氧化酶阳性。

3. 变异　百日咳鲍特菌常发生菌落变异。新分离菌株具有菌体（O）和表面（K）抗原，菌落为光滑型，毒力强，称为Ⅰ相菌。人工培养后细菌逐渐发生变异，表现为细菌形态结构、溶血性、抗原性、致病力的变异。当细菌失去荚膜，毒力消失时，菌落表现为粗糙型，此为Ⅳ相菌。Ⅱ相、Ⅲ相为过渡相细菌。制备菌苗时应选用Ⅰ相菌株。

4. 抵抗力　百日咳鲍特菌的抵抗力较弱，对紫外线敏感，日光直射60分钟可死亡。56℃加热30分钟被杀死。在干燥尘埃中存活3天。本菌对红霉素敏感，对青霉素不敏感。

致病性与免疫性　致病物质包括荚膜、菌毛及多种毒素等。①百日咳毒素（pertussis toxin，PT）：由5个蛋白亚单位组成，是百日咳鲍特菌的主要毒力因子。作为典型的A-B结构外毒素，其B寡聚体介导毒素与呼吸道纤毛上皮细胞结合进入机体，A亚单位具有二磷酸腺苷（ADP）转移酶活性，与细菌附着纤毛上皮细胞及引起阵发性咳嗽有关；②丝状红细胞凝集毒素（filamentous hemagglutinin，FHA）：介导细菌与纤毛上皮细胞黏附；③腺苷酸环化酶毒素（adenylcyclase toxin）：可迅速提高吞噬细胞内cAMP水平，抑制吞噬杀伤作用，并能促进呼吸道黏膜杯状细胞分泌黏液，加重对呼吸道的致病作用。另可抑制NK细胞的溶细胞作用；④气管细胞毒素：对气管纤毛上皮细胞有特殊亲合力，抑制纤毛细胞DNA合成，阻遏纤毛摆动甚至使细胞坏死脱落；⑤皮肤坏死毒素：也称不耐热毒素，可使外周血管平滑肌强烈收缩，造成局部缺血、水肿和白细胞渗出。

百日咳的传染源主要是早期患者和带菌者，主要经飞沫传播。百日咳鲍特菌不进入血流，主要造成局部组织损伤。细菌进入呼吸道后，迅速黏附于气管和支气管上皮细胞表面并在局部增殖，引

起局部炎症和坏死。上皮纤毛细胞运动受抑制或破坏，黏稠分泌物增多而不能及时排除，导致剧烈咳嗽，小支气管阻塞会导致血氧含量下降，使百日咳患儿频繁抽搐。潜伏期约7～14天，临床病程分为三期：①卡他期：类似普通感冒，如低热、咳嗽、打喷嚏等，此期持续1～2周，大量病原体会随呼吸道飞沫播散，故传染性最强；②痉挛期：阵发性剧咳为其特征，由于支气管痉挛可伴有吸气吼声（鸡鸣样吼声）、呕吐、发绀，呼吸困难和抽搐；每天可出现10～20次剧烈的阵咳。此期持续1～6周；③恢复期：阵咳减轻，完全恢复需数周到数月。由于整个病程较长，故名百日咳。

在少数患者，可继发溶血性链球菌、葡萄球菌或流感嗜血杆菌等细菌感染，引起肺炎、中耳炎或中枢神经系统症状。

免疫性　感染后出现多种特异性抗体，局部黏膜的SIgA能阻止细菌黏附呼吸道黏膜上皮细胞，具有重要的保护性免疫作用。机体获得持久的特异性免疫力，很少再次感染。

微生物学检查法　取鼻腔洗液或鼻咽拭子，接种于鲍-金培养基，观察菌落并染色镜检。与Ⅰ相菌免疫血清作凝集试验进行鉴定。荧光抗体法用于早期鉴定。

防治原则　对幼儿进行白百破三联疫苗（百日咳菌苗和白喉类毒素、破伤风类毒素，DPT）的预防接种是我国计划免疫的内容之一。治疗首选红霉素、氨苄西林等。

第五节　气单胞菌属

气单胞菌属（*Aeromonas*）是一群革兰阴性杆菌，长约1～4μm，有单鞭毛，有荚膜，不形成芽胞。需氧或兼性厌氧。营养要求不高，在普通培养基上，置35～37℃培养24小时形成灰白色、光滑型菌落。在血琼脂平板上多呈β溶血。能发酵葡萄糖。氧化酶阳性。

气单胞菌属有28个菌种，广泛分布于水和泥土中，偶尔可从正常人的粪便中检出。嗜水气单胞菌（*A. hydrophila*）、豚鼠气单胞菌（*A. caviae*）和维隆气单胞菌温和生物型（*A. veronii biovar sobrid*）是主要的致病菌种，嗜水气单胞菌是本菌属的代表菌。

嗜水气单胞菌广泛存在自然界，为水中常居菌，在海水、河水、湖水、游泳池水、供水系统和下水道等环境中均有检出。嗜水气单胞菌是夏季腹泻的常见病原菌之一，由进食细菌污染的食物和水等引发感染。腹泻可表现为急性水样腹泻、有黏液脓血便的急性菌痢样腹泻或有米泔水样便的霍乱样腹泻等。外伤感染常见于接触河水、污泥的皮肤伤口。轻者仅有局部溃疡，重者可发生蜂窝织炎。在机体衰弱的慢性病患者或接受激素治疗、化疗或免疫抑制剂患者，本菌可由伤口或肠道侵入血流引起败血症、骨髓炎、脑膜炎、盆腔脓肿、腹膜炎、膀胱炎和眼炎等，死亡率高。

根据感染部位选择采集粪便、脓汁、血液或脑脊液等标本进行微生物学检查。脓汁可直接涂片，镜检可见革兰阴性杆菌。分离培养常使用血琼脂平板和选择性培养基，根据生化反应作出判定，特别注意与假单胞菌及肠杆菌科的鉴别。

展　　望

铜绿假单胞菌可引起多种严重的感染，是肺囊性纤维化、烧伤和创伤后继发感染的主要病原菌，其外毒素A是最强有力毒素，对烧伤患者的致死作用突出。由于该菌的外膜微孔蛋白突变导致对药物的通透性低，细菌胞内存在多种外排泵，故对多种抗菌药物表现为天然或获得性多重耐药。感染后可供选择的有效抗菌药物甚少，使得临床治疗的难度大为增加。因此国内外对铜绿假单胞菌的研究十分重视。在寻求有效的治疗措施的同时，研制新型疫苗，提高易感人群的特异性抗感染免疫能力备受关注，正在研究的相关疫苗有DNA疫苗、重组外膜蛋白疫苗等。

不动杆菌是毒力较低的条件致病菌，鲍曼不动杆菌的临床分离率越来越高，成为仅次于铜绿假单胞菌的又一个重要的非发酵糖菌。该菌的耐药机制比较复杂，其明显的多重耐药性可能与该菌广

泛存在于自然界如土壤中有关，后者存在的抗菌物质可使该菌在进化过程中具有了多种耐药机制。而医院环境中抗生素及其消毒防腐剂的广泛应用均可能有助于多重耐药性的形成。整合子对于介导不动杆菌对氨基糖苷类、氯霉素、利福平的耐药可能起重要作用。

嗜麦芽窄食单胞菌在大量使用广谱抗生素和介入式医疗器械后，逐渐成为医院感染的重要病原菌之一。该菌属于多重耐药菌，对β-内酰胺类、喹诺酮类、氨基糖苷类、碳青霉烯类以及一些消毒剂都可表现出抗药性，其耐药机制可能与外膜改变使膜通透性降低，主动外排泵系统和产生水解酶等有关。在治疗过程中该菌对一些最初敏感的药物也很快会产生耐药，给治疗带来很大的困难，故感染后的死亡率很高。因此，应注意对该菌耐药性的监测，以便选用更为合理、有效的药物。

嗜肺军团菌是一种兼性胞内寄生菌，人因吸入含有该菌的气溶胶而感染， 并在人类肺泡巨噬细胞及其他巨噬细胞、肺泡上皮细胞内增殖。其致病机制很复杂，涉及胞外生长、黏附与侵入宿主细胞、胞内生长与增殖、逸出宿主细胞，以及在宿主细胞之间传播等一系列过程。由细胞介导的免疫应答在宿主防御系统中起着重要作用。近年来对嗜肺军团菌的表面结构（如Ⅳ型菌毛、鞭毛、外膜蛋白等）、促进细胞内感染的基因（如*eml*、*mila*、*pmi*、*rcp*等）以及相关的蛋白分泌系统（如Ⅱ型系统分泌降解酶，Ⅳ型系统分泌能抑制吞噬体-溶酶体融合的效应蛋白）等的研究都获得新进展。有关军团菌疫苗的研究涉及灭活全菌疫苗、减毒活疫苗、亚单位疫苗、基因工程重组疫苗以及DNA疫苗等，但目前尚无理想的疫苗供使用。

白喉棒状杆菌是一种以白喉毒素为其主要致病物质的细菌。白喉毒素是一种高效的细胞毒素，理论上1～2个毒素分子进入胞质就可杀死细胞，而且无论是处于静止休眠或活跃分裂状态的细胞都无法逃脱。由白喉毒素构建的免疫毒素或融合蛋白已成为近些年来的研究热点。这类免疫毒素是将缺失天然受体结合活性的白喉毒素片段与单克隆抗体或细胞因子，偶联而得到的一类新型靶向药物，它可特异识别并结合靶细胞，并通过发挥白喉毒素的ADP核糖基化活性而抑制细胞蛋白合成，导致靶细胞死亡。由于白喉毒素类免疫毒素显示出高效、特异地杀伤靶细胞的能力，因而在肿瘤的导向治疗研究上取得了大量令人鼓舞的成果，而且白喉毒素类免疫毒素杀细胞机制与传统药物不同，因而对放疗、化疗有耐药性的肿瘤治疗更有一定的优势。此外，白喉毒素类免疫毒素亦被用于AIDS、移植物抗宿主病及自身免疫性疾病等的治疗研究。虽然有的白喉毒素类免疫毒素已进入临床研究，但要作为一种新型的治疗药物，目前还面临许多挑战：①免疫毒素的渗透性有待提高，这在实体瘤治疗时是很重要的影响因素；②减少免疫毒素的非特异毒性，降低对正常组织的损伤；③免疫原性问题，免疫毒素或融合蛋白对机体都是一种外来抗原，如何通过“人源化”改造，避免中和抗体的产生及其对药效的影响等都还需要不断地探索研究。

流感嗜血杆菌是第一个被成功测序完整基因组的细菌（1995年）。近些年来，人们一直在探索如何用菌苗来预防Hib感染。研究发现，b型菌体荚膜中的多糖或多磷酸聚核糖基核糖醇（PRP）具有免疫原性，因此被纯化制成疫苗。但对于18月龄以内的小儿，这种疫苗的有效率实际为零。结合疫苗比以往的疫苗具有更强的免疫原性和更好的免疫效果，成功解决了疫苗在婴幼儿中无效的问题。根据结合载体蛋白的不同，Hib结合疫苗分为与破伤风类毒素结合的PRP-T、与B群脑膜炎奈瑟菌外膜蛋白结合的PRP-OMP、与白喉类毒素结合的PRP-D、与白喉棒状杆菌变异株产生的无毒变体CRM197蛋白结合的PRP-CRM197（HBOC）等。目前广泛使用的是Hib PRP-T。不少国家采用Hib菌苗进行预防，使得Hib感染性疾病明显减少，有效地保护了儿童的健康成长。为此，1996年WHO已将Hib蛋白结合菌苗引入各国扩大的计划免疫中，各国也在根据本国的实际情况，有目的、有计划地组织实施。

值得注意的是NTHI能黏附并覆盖在呼吸道上皮细胞表面，引起局部急性炎症反应和多形核白细胞的聚集，由此可以引起慢性阻塞性肺疾病、肺囊性纤维化继发感染等。有关NTHI的基因型、表型、毒力等之间的关系，以及相关的新疫苗还需要进行深入研究。

百日咳鲍特菌感染引起百日咳。百日咳疫苗的应用使百日咳的发病率大大降低。但由于由甲

醛灭活菌体制成的全细胞百日咳疫苗的全身和局部的副作用较大（如可发生持续性哭闹、痉挛或脑部症状），现已有一种或几种百日咳抗原组成的无细胞疫苗，其中主要的成分是百日咳毒素（PT），免疫效果良好，但副作用明显降低。在我国，目前全细胞和无细胞百日咳疫苗都有应用。百日咳鲍特菌基因组测序的完成，使得采用基因工程技术，表达和修饰百日咳保护性抗原，研制百日咳基因工程疫苗成为可能。近年来，百日咳鲍特菌的主要毒力基因是否存在抗原漂移受到关注。

嗜水气单胞菌是一种典型的人-畜-鱼共患病病原菌，致病性与相关毒力因子关系密切。目前已发现的毒力因子有外毒素、蛋白酶、S层、菌毛、转铁蛋白和外膜蛋白等。已确定的外毒素有气溶素（aerolysin）、溶血素 （hemolysin）、溶血毒素（hemolytic toxin）和细胞毒性肠毒素（cytolytic enterotoxin）等。虽然上述外毒素名称各异，但其生物学活性相似，基因结构具有非常高的同源性，可以认为是一种毒素基因编码的产物，国际上逐渐公认其外毒素的名称为气溶素（即Aer毒素），具有溶血性、肠毒性和细胞毒性，对Vero、Hela等细胞有明显的毒性。Aer毒素的肠毒性机制与霍乱毒素相似，毒素结合到肠上皮细胞膜上的腺苷酸环化酶，导致细胞内ATP转化为cAMP。鉴于Aer毒素在致病性上的重要作用，该毒素的检测可用于嗜水气单胞菌的快速诊断、流行病调查及公共卫生检测和检疫等。

（张力平）

第十五章 支 原 体

支原体（mycoplasma）是一类无细胞壁、形态上呈多态性、可通过常用的除菌滤器、能在无生命培养基中生长繁殖的最小的原核细胞型微生物。由于它们能形成有分支的长丝，故称之为支原体。

Nocard等于1898年首先从牛传染性胸膜肺炎病灶中发现支原体，Dienes等于1937年首次从前庭腺炎患者脓液中分离出支原体，Chanock等于1962年人工培养支原体获得成功。在分类学上，支原体隶属于柔膜体纲（Mollicutes）支原体目（Mycoplasmatales）支原体科（Mycoplasmataceae），支原体科含支原体（Mycoplasma）和脲原体（Ureaplasma）两个属。支原体属有64个种，脲原体属有2个种。支原体属中对人致病的主要是肺炎支原体（*M. pneumoniae*）、人型支原体（*M. hominis*）和生殖器支原体（*M. genitalium*），脲原体属中主要是溶脲脲原体（*U. urealyticum*）。唾液支原体（*M. salivarium*）和口腔支原体（*M. orale*）等可能成为条件致病菌。继1986年从艾滋病患者标本中分离出发酵支原体（*M.fermentans*）后，近年来又分离出穿透支原体（*M. penetrans*）和*M. pirum*两个新种，可能具有协同艾滋病病原体人类免疫缺陷病毒（HIV）致病的作用。此外，支原体还可引起牛、羊、猪、禽类、啮齿类动物以及昆虫、植物等疾病，同时也是细胞培养中最常见的污染源，土壤和污水中也可分离到腐生性支原体。引起人类疾病的主要支原体的生物学性状见表15-1。

表15-1 引起人类疾病主要支原体的生物学性状

支原体种类	葡萄糖	精氨酸	尿素	吸附细胞	致病性
肺炎支原体	+	–	–	红细胞	间质性肺炎和支气管炎
人型支原体	–	+	–	–	泌尿生殖道感染
生殖器支原体	+	–	–	–	泌尿生殖道感染
溶脲脲原体	–	–	+	–	泌尿生殖道感染、流产及不孕
穿透支原体	+	+	–	$CD4^+$ T细胞、红细胞和巨噬细胞	条件感染，常见于艾滋病

Mycoplasma is a large group of the smallest microorganisms that can be free-living in nature and grow in artificial cell-free media. The organisms are pleomorphic due to lack of rigid peptidoglycan cell wall. In biotic taxonomy, *Mycoplasma* species are intermediate between viruses and bacteria.

Mycoplasma was primarily isolated from cattles that had pleuropneumonia in 1898 and the first successful culture in vitro was implemented in 1962. Up to date, more than 150 *Mycoplasma* species have been isolated from humans, animals and plants, and all the species are classified into *Mycoplasma* and *Ureaplasma* genera. However, only a few species of *Mycoplasma* are pathogenic to human beings such as *M. pneumoniae*, *M. hominis*, *M. genitalium*, *M. penetrans* and *Ureaplasma urealyticum*. *M. pneumoniae* is an important causative agent of primary atypical pneumonia and other airway disorders such as tracheobronchitis and pharyngitis. *U. urealyticum* is one of the pathogens that causing nongonococcal

urethritis (NGU), abortion and sterility. *M. hominis*, *M. genitalium* and *M. penetrans* are considered to be the opportunistic pathogens. Particularly, *M. penetranns* has been confirmed as a possible cofactor in HIV infection which contributed to the development of AIDS symptoms. Recent research revealed that infection of mycoplasma is associated with the generation of some certain tumors.

Pathogenic *Mycoplasma* species are primarily recognized as extracellular parasites on mucosa, whereas recent evidence suggests that certain species may invade into host cells. Many *Mycoplasma* species are able to produce virulence factors such as neurotoxin, exotoxin and other materials to cause tissue damage. Immune response to mycoplasma infection is a complex process including humoral and cellular immunity.

Diagnosis of mycoplasma infection mainly depends on pathogen isolation and serological examination. Attenuated vaccine is still in research. Acheomycin and erythromycin are often used for therapy.

支原体大小一般为0.2～0. 3μm，结构简单。无细胞壁，其形状呈高度多态性，有球形、双球形、丝状三种基本形态。繁殖以二分裂方式为主，也可通过出芽、分枝、丝状体断裂等方式繁殖。在固体培养基上培养，绝大多数菌种可形成中央厚而隆起、边缘薄而扁平的"油煎蛋状"菌落（图15-1）。部分支原体的菌落直径仅为数十微米，称之为"T株"（tiny strain）。在液体培养基中可见有滑行、旋转、屈伸等运动方式。不易被革兰染料着色，常用吉姆萨染色法（Giemsa stain）染色，但需染色3小时以上（图15-2）。

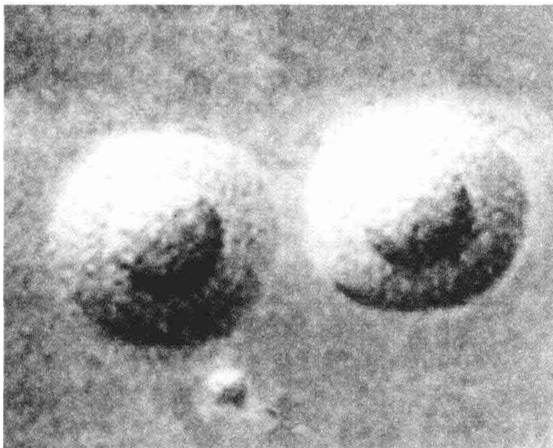


图15-1 支原体油煎蛋状菌落
（光学显微镜，×100）

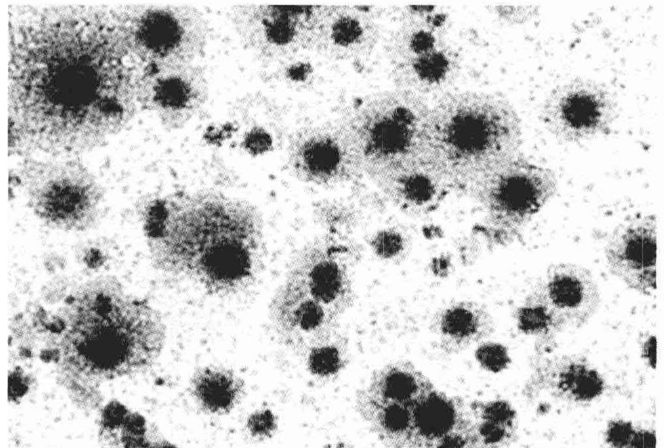


图15-2 吉姆萨染色法染色的支原体集落
（光学显微镜，×1000）

支原体细胞膜呈现为三层结构，内、外层由蛋白质和糖类组成，中层为脂质。外层蛋白质是型特异性抗原，很少有交叉反应，对支原体鉴定有重要价值。脂质层胆固醇含量较多，约占总脂质的1/3。胞质内含有核糖体、DNA和RNA，基因组为双链环状DNA。部分菌种细胞膜外尚有一层由多糖或肽聚糖组成的荚膜，往往与毒力有关。一些支原体膜蛋白可与红细胞表面神经氨酸酶结合，故有红细胞吸附（hemadsorption）现象。

寄生性支原体营养要求高，培养基一般以牛心浸液为基础，需加入血清、酵母浸膏，以提供胆固醇、长链饱和及不饱和脂肪酸、核苷前体和维生素等。大多微需氧或兼性厌氧，5%～10%CO_2促进生长。适宜生长温度为35℃。合适pH支原体为7.0～8.0，溶脲脲原体为6.0。生长缓慢，在液体培养基中的分裂一代约需18小时，通常需培养2～3周，因菌数少、菌体小，一般不易见到培养基浑浊现象。多数支原体可利用葡萄糖、精氨酸为主要能源，溶脲脲原体能源可能是尿素（表15-2）。

表15-2 支原体与细菌L型生物学性状的区别

生物学性状	支原体	细菌L型
菌落形态与大小	油煎蛋状，0.1～0.3mm	油煎蛋状，0.5～1.0mm
菌体形态与大小	多种形态，0.2～0.3μm	多种形态，0.6～1.0μm
细胞壁	无	无或部分残留
细胞壁缺失的原因	遗传	表型变异，可恢复
细胞膜	1/3为胆固醇	不含胆固醇
液体培养	混浊度很低	有一定的混浊度

多数支原体对人无致病性。肺炎支原体引起人支原体肺炎（mycoplasma pneumonia），又称原发性非典型性肺炎（primary atypical pneumonia）。溶脲脲原体、人型支原体、生殖器支原体是正常人群泌尿生殖道常见寄生菌，但可条件致病。近年来，穿透支原体等协同人类免疫缺陷病毒致病的作用引起了广泛关注。黏附通常是支原体致病的先决条件，已知部分支原体可通过菌体一端的球状或尖形顶端结构黏附宿主细胞。支原体一般不侵入宿主细胞，但可通过毒性代谢产物、从宿主细胞摄取营养成分等方式引起组织细胞损伤。诱导病理性免疫反应被认为是支原体致病的重要机制。

支原体感染的免疫应答机制较为复杂，其抗原成分主要有蛋白质和糖脂两类，前者主要引起体液免疫，后者主要诱导细胞免疫。型特异性抗原外层蛋白质常作为ELISA检测的抗原并用于支原体分类鉴定。支原体感染后体液免疫保护作用不强且不持久。血清抗体有IgM和IgG两类，可增强吞噬细胞吞噬及杀灭支原体的作用。SIgA有抵御支原体再次感染的作用，但不能达到完全的免疫保护。一些支原体具有多种耐热或不耐热丝裂原，能刺激T细胞和B细胞转化，诱生多种非特异性或自身IgM（如冷凝集素）和IgG及大量的细胞因子，引起自身免疫或变态反应。一些支原体具有与宿主细胞相同或相似的抗原，除可逃避宿主免疫监视外，也可引起免疫损伤。

支原体可被脂溶剂和常用消毒剂灭活，对紫外线、干燥、加热（56℃ 30分钟）、低渗透压敏感。对铊盐、亚碲酸盐、结晶紫抵抗力大于细菌，因此培养基中往往加入醋酸铊以抑制杂菌生长。耐低温，－70℃或冷冻干燥可长期保存菌种。对作用于细胞壁的抗生素（青霉素、头孢菌素和万古霉素类等）不敏感，对干扰细菌蛋白质合成的抗生素（红霉素等大环内酯类、链霉素等氨基糖苷类、多西环素等四环素类）敏感。

细菌L型缺乏细胞壁，生物学性状与支原体相似，也可引起间质性肺炎、泌尿生殖道感染，因此两者常需比较与鉴别（表15-2）。

第一节 肺炎支原体

正常人和动物的呼吸道黏膜表面长期寄居着多种支原体，如上呼吸道常见的唾液支原体、口腔支原体和人型支原体等，当局部抵抗力降低时可致病，临床症状不明显，病程较长。肺炎支原体（M.pneumoniae）是下呼吸道重要的致病性支原体，所引起的人类支原体肺炎占非细菌性肺炎50%左右，其病理变化以间质性肺炎为主，又称之原发性非典型性肺炎。

一、生物学性状

形态与染色 主要呈丝状，2～5μm长，一端有球状结构（图15-3），有时可见球形或双球形菌体。以滑行的方式运动。吉姆萨染色法染成淡紫色或蓝色。

培养特性 营养要求高，培养基中必须添加10%～20%人或动物血清，初次分离培养时尚需添加10%酵母浸膏。肺炎支原体在5%CO_2条件下生长较好，最适pH为7.8～8.0，酸性环境下易死亡，最适培养温度为36～37℃。液体培养基中常因繁殖数量少而呈浅淡的浑浊，固体培养基上形成直

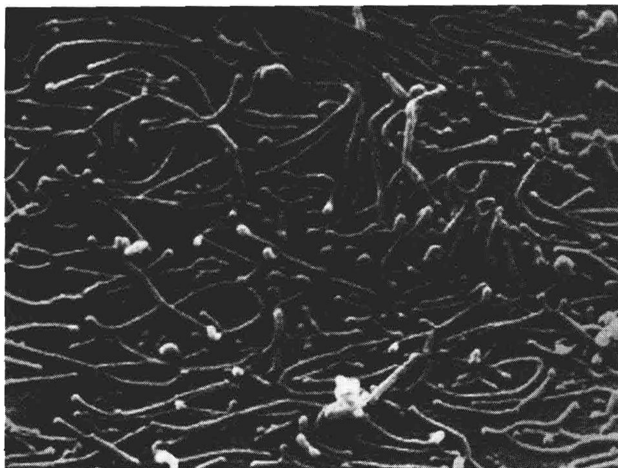


图15-3 肺炎支原体（扫描电镜，×6500）

径为10～100μm的菌落。初次分离时呈草莓状细小菌落，反复传代后形成典型的油煎蛋状菌落。主要以二分裂方式繁殖，也可有出芽、分枝、球体延伸成丝状后断裂为球杆状颗粒等繁殖方式。在繁殖过程中，因胞膜分裂滞后于核酸复制，故易形成多核丝状体。

抗原构造　主要抗原为胞膜中的糖脂和蛋白质。糖脂抗原的抗原性很强，但与多种其他支原体、细菌和宿主细胞有共同抗原决定簇，特异性较差。所有肺炎支原体菌株均有相对分子质量170×10^3的P1膜蛋白和43×10^3的菌体蛋白，特异性强，且能刺激机体产生持久的高效价抗体。部分肺炎支原体菌株有荚膜，主要成分是多糖，也有一定的抗原性。

基因组　肺炎支原体M129株染色体为一个816 394 bp的环状DNA。

抵抗力　不耐热，50℃ 30分钟或55℃ 5～15分钟可致死。不耐干燥。在－20℃条件下可存活一年，冷冻干燥后可长期保存。对酸、有机溶剂以及两性霉素B、皂素等能作用于胆固醇的物质敏感，但对碱、醋酸铊、结晶紫有抵抗力，可用于分离培养时去除杂菌。对β-内酰胺类抗生素有抵抗力，对链霉素、红霉素、多西环素、螺旋霉素等敏感。

二、致病性与免疫性

致病物质　主要有P1蛋白、糖脂抗原和荚膜多糖。

1. P1蛋白　为具有黏附作用的膜蛋白，主要位于球状结构表面，其受体是呼吸道黏膜上皮细胞、红细胞等表面的神经氨酸酶。P1蛋白帮助肺炎支原体黏附与定植，避免微纤毛运动将其排除而有助于其局部增殖。

2. 糖脂抗原　与多种宿主细胞有共同抗原决定簇，可引起变态反应及免疫损伤。

3. 荚膜　具有抗吞噬作用，亦有细胞毒性。

4. 毒性代谢产物　核酸酶、过氧化氢和超氧阴离子等可引起宿主细胞的病理性损害，出现细胞肿胀、坏死和脱落，以及微纤毛运动减弱或停止。

所致疾病　传染源为患者或带菌者，主要经飞沫传播，多发生在夏末秋初季节，呈间歇性流行，患者以儿童及青少年多见。潜伏2～3周后，首先引起上呼吸道感染，然后下行引起气管炎、支气管炎和肺炎。感染后症状轻重不一，可是较轻的感冒、咽炎，也可是较重的肺炎并可伴发肺外组织或器官病变，如心肌炎、心包炎、脑膜炎、脑炎及皮疹等。支原体肺炎与细菌性肺炎不同，起病缓慢、病程长、预后好，一般不用抗生素也可自愈。临床症状有发热、头痛、持续性顽固咳嗽、胸痛等，X线检查常为间质性肺炎的表现。发病3～10天后主要症状消失，但咳嗽持续时间较长。婴幼儿不仅发病率较高，且往往发病急、病情严重，临床症状以呼吸困难为主，可导致死亡。

免疫性　以体液免疫为主，细胞免疫也有一定作用。血清抗体不能阻断感染者向体外排出肺炎支原体，呼吸道SIgA虽有一定的免疫保护作用，但不能抵御肺炎支原体的再次感染。

肺炎支原体与人心、肺、脑和肾等组织细胞有共同抗原，可引起Ⅱ型超敏反应，如心肌炎、脑膜炎、肾炎、格林-巴利综合征、溶血性贫血和血小板减少性紫癜等。肺炎支原体IgG与相应抗原组成的免疫复合物可引起Ⅲ型超敏反应，如心肌炎、肾炎等。患者血清中还可存在一种非特异性IgM冷凝集素，可能是肺炎支原体作用于红细胞Ⅰ型抗原，使其变性后诱导生成的自身抗体。

三、微生物学检查法

标本采集 临床上支原体肺炎常与其他类型肺炎相似，微生物学检查可明确诊断提供依据。根据检测方法不同，可采集患者的痰或咽拭、鼻洗液或支气管洗液、血清等标本。

病原学检查

1. 分离培养 取可疑患者的痰或咽拭子接种于含血清和酵母浸膏的培养基中，用青霉素、醋酸铊抑制杂菌生长。可疑菌落可通过其菌落特征、染色后镜检、红细胞吸附、生化反应以及生长抑制试验（growth inhibition test，GIT）、代谢抑制试验（metabolic inhibition test，MIT）等方法进行鉴定。

2. 生长抑制试验（GIT） 应用特异性抗体浸润的滤纸片，贴在接种可疑菌落的固体培养基上，孵育后观察是否有抑菌环，若出现抑菌环则表明可疑菌落是肺炎支原体。

3. 代谢抑制试验（MIT） 将可疑菌落接种在含有特异性抗体、葡萄糖和酚红的液体培养基中，若抗体与支原体相对应，则可与支原体结合，其生长代谢被抑制，不能分解葡萄糖产酸，pH不降低，酚红颜色不变。

4. ELISA 应用单克隆抗体检测患者痰液、鼻腔或支气管洗液中肺炎支原体P1膜蛋白和相对分子质量为43×10^3的菌体蛋白。

5. 分子生物学技术 采用PCR或特异性核酸探针检测患者痰液中肺炎支原体DNA。

血清学检查

1. 冷凝集素试验 冷凝集素是支原体感染后机体产生的一类IgM型自身抗体。将患者血清稀释后与人O型红细胞混合，4℃孵育过夜后观察红细胞凝集现象。37℃时该红细胞凝集现象可消失，故称之冷凝集试验。此试验仅有50%左右患者出现阳性结果，且为非特异性反应，呼吸道合胞病毒感染、腮腺炎、流感等患者也可出现冷凝集素效价的升高，故仅能作为辅助诊断指标。

2. ELISA 采用P1膜蛋白和相对分子质量为43×10^3菌体蛋白作为包被抗原检测相应抗体，敏感性较高，可用于支原体肺炎的早期诊断。

四、防治原则

肺炎支原体无细胞壁，对青霉素、头孢菌素类抗生素不敏感，常用红霉素、多西环素、螺旋霉素及其他大环内酯类抗生素治疗。目前尚无肺炎支原体疫苗产品。

第二节 溶脲脲原体

脲原体属中有两个种，其中溶脲脲原体（*U. urealyticum*）又称解脲脲原体，与人类泌尿生殖道感染密切相关。溶脲脲原体是人类泌尿生殖道常见的寄生菌之一，在特定条件下引起非淋菌性尿道炎（nongonococcal urethritis，NGU），NGU是常见的性病之一。溶脲脲原体在人体定植数量有两次高峰期，即分娩时由母体经产道感染新生儿，以后迅速减少，从性生活开始又逐渐增多。

一、生物学性状

形态与染色 球形为主，直径50～300nm（图15-4），单个或成双排列，丝状体少见。无动力，吉姆萨染色法染成紫蓝色。

培养特性 微需氧，营养要求高。在95%N_2和5%CO_2、37℃条件下生长良好。耐酸，最适pH值为6.0，该酸碱度可抑制其他杂菌生长。固体培养基上溶脲脲原体形成的菌落微小，直径为15～60μm，呈油煎蛋状或颗粒状。溶脲脲原体有尿素酶，可分解尿素提供自身代谢的能源。由于分解尿素产氨，培养基pH升高，可使培养基中酚红变红。

抗原构造和分类 外膜蛋白中有主要表面抗原MB，为宿主细胞识别溶脲脲原体的主要靶位。

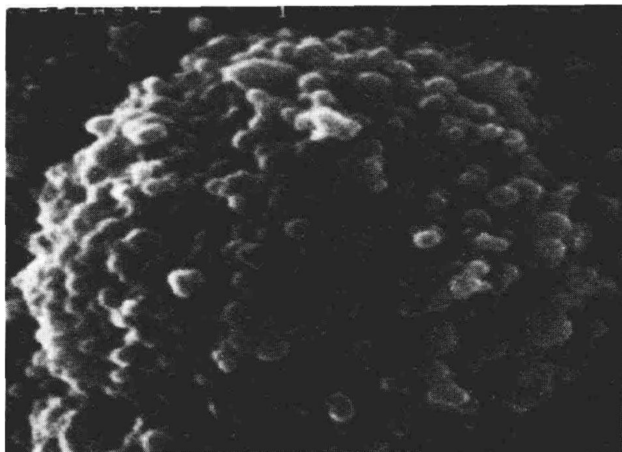


图15-4 溶脲脲原体（扫描电镜，×5500）

不同菌株中MB抗原N端长短不一、C端有数目不等的重复序列，与人唾液腺管和输精管上皮、IgA的Fc受体、DNA结合蛋白有不同程度的序列相似性，其致病意义正在研究之中。有14个血清型，其中4型血清型致病性较强。

基因组 溶脲脲原体ATCC33699株染色体为一个874478bp的环状DNA。

抵抗力 耐低温不耐热，冷冻干燥后可长期保存干燥。对铊盐敏感，0.05%醋酸铊即可抑制其生长。对红霉素、庆大霉素、四环素、卡那霉素敏感，对青霉素、林可霉素不敏感。

二、致病性与免疫性

致病物质 尚未完全清楚，已知致病物质有侵袭性酶和毒性代谢产物。

1. 磷脂酶 溶脲脲原体吸附宿主细胞后，可产生磷脂酶分解细胞膜中的卵磷脂，同时可利用细胞膜中脂类和胆固醇为养料，结果导致宿主细胞的损伤。

2. 尿素酶 是溶脲脲原体特征性酶类。尿素酶可分解尿素，产生大量对细胞有毒性作用的氨类物质。

3. IgA蛋白酶 各血清型溶脲脲原体均可产生IgA蛋白酶。该酶可降解SIgA，削弱泌尿生殖道黏膜局部的特异性抗感染免疫功能。

4. 神经氨酸酶样物质 可干扰精子和卵子的结合，与感染性不孕症有关。

所致疾病 溶脲脲原体主要经性生活中密切接触传播，14个血清型中以4型感染率最高。一般为浅表感染，大多不侵入血流。在非淋球菌性尿道炎（NGU）中，溶脲脲原体占第二位，其中30%～40%男性尿道炎是由溶脲脲原体感染所致。溶脲脲原体主要寄生于男性尿道、阴茎包皮和女性阴道。若上行感染，可引起男性前列腺炎、附睾炎，以及女性阴道炎、宫颈炎。孕妇感染可导致流产、早产、死胎、低体重儿、新生儿脑膜炎和先天性肺炎等。淋球菌性尿道炎患者中溶脲脲原体的检出率明显高于NGU，这可能是一些淋病患者治愈后仍有后遗症的原因之一。

溶脲脲原体是感染性不孕症的常见病因。溶脲脲原体吸附于精子表面阻碍其运动，神经氨酸酶样物质可干扰精子和卵子的结合，与精子或输精管上皮有共同抗原，可导致Ⅱ型变态反应，溶脲脲原体感染还能诱导生精细胞凋亡。

免疫性 机体对正常寄生的溶脲脲原体难以产生特异性免疫应答，有文献报道部分患者血清中存在溶脲脲原体特异性抗体，其意义尚待进一步研究。

三、微生物学检查法

标本采集 采集精液、前列腺液、阴道分泌物、尿液等标本。若进行培养分离，应注意将新鲜标本立即接种，若不能立即接种，应将标本放置于4℃冰箱暂存并于12小时内接种，否则影响阳性率。

病原学检查

1. 分离培养 采用加有尿素和血清的支原体肉汤培养基，可加入青霉素抑制部分杂菌。溶脲脲原体能分解尿素产氨，使培养基中酚红变红，培养基因溶脲脲原体生长菌数少而无浑浊现象。固体培养基上溶脲脲原体形成的微小菌落可用低倍显微镜观察。可用特异性免疫血清的免疫斑点试验（immunodot test，IDT）对可疑菌落进行鉴定。

2. 分子生物学检测 一般以尿素酶基因为靶基因，采用PCR、特异性核酸探针检测标本中溶脲

脲原体DNA。

血清学检查

有人以培养的溶脲脲原体为抗原，采用ELISA检测患者血清抗体。由于溶脲脲原体一般为浅表感染，免疫应答微弱，血清抗体效价低且不稳定，故较少使用。

四、防治原则

加强宣传教育，注意性卫生。感染者可用多西环素、红霉素、庆大霉素治疗。目前尚无疫苗产品。

展 望

支原体是一类介于细菌和病毒之间、能自行在无生命培养基中繁殖的最小微生物。支原体种类繁多且分布广泛，目前已报告有150多种支原体，可分为寄生性和腐生性两大类。寄生性支原体可成为人和动物的外源性病原体，也可是条件致病微生物或与宿主处于共生状态。已知寄生性支原体约有90余种，有致病性者14种，肯定对人致病者有肺炎支原体和溶脲脲原体，条件致病或协同其他微生物致病者有人型支原体、生殖器支原体、唾液支原体、口腔支原体、穿透支原体和发酵支原体等。支原体感染除引起原发性非典型性肺炎和非淋菌性尿道炎等疾病外，动脉粥样硬化、糖尿病、高血压等非传染性疾病也与某些支原体感染密切相关。

1990年，从艾滋病患者尿液中首次分离出穿透支原体。而后的实验证明，穿透支原体一端的尖形结构具有黏附和穿入宿主细胞的功能，感染2小时即能侵入人或动物的红细胞、单核-巨噬细胞和淋巴细胞，并在其中大量增殖，导致宿主细胞损伤及死亡。流行病学资料显示，正常人群或性病患者标本中穿透支原体、发酵支原体、*M. pirum* 检出率很低（ $< 1\%$ ），HIV感染者上述支原体检出率也明显低于艾滋病患者，因而认为这些支原体可能有协同HIV致病的作用。虽有文献报道，艾滋病患者免疫缺陷使机体对穿透支原体的易感性增加，穿透支原体的感染又可能促进HIV的复制，加速HIV感染患者病情进展，但其相互协同的确切机制仍然不明。

黏附是支原体致病过程中的第一步。尽管人们已知肺炎支原体球状顶端结构、穿透支原体尖形顶端结构决定其黏附宿主细胞的能力，但黏附素分子及其细胞表面受体分子尚未完全明了，上述支原体在黏附过程中与宿主细胞相互作用的分子机制也值得深入研究。溶脲脲原体主要表面抗原MB具有黏附宿主细胞的作用，但不同菌株中MB抗原N端长短不一、C端有数目不等的重复序列，这种MB抗原分子异质性与溶脲脲原体致病性和免疫性关系，至今尚未阐明。

值得关注的是，一些支原体具有类似超抗原的作用，该作用主要是支原体含有丝裂原活性表面分子所致。业已证明，肺炎支原体能强烈地刺激B细胞转化并诱生多种非特异性IgM和IgG，这些抗体参与了宿主免疫病理损伤；关节支原体能产生具有强大的转化T细胞和B细胞作用的丝裂原（*Mycoplasma arthritis mitogen*，MAM），在支原体致病过程中发挥了重要作用。一些支原体具有与宿主细胞相同或相似的抗原，如肺炎支原体的糖脂抗原和溶脲脲原体的神经氨酸酶样物质，此类抗原所激发的免疫反应也可带来宿主组织细胞的损伤。另有文献报道，肺炎支原体感染细胞可改变其表面抗原的分子结构，诱导机体产生自身抗体，导致细胞免疫损伤。因此，诱导宿主病理性免疫应答，是支原体主要致病机制之一。

传统的疫苗以全均或全病毒为抗原。近年发现，一些支原体全菌死或活疫苗接种后，不仅未产生有效的免疫保护性，反之引起疫苗接种增强性疾病（vaccination enhance disease， VED），也即接种疫苗者在自然感染后的临床症状和体征明显远较未接种者严重，这是至今尚无支原体疫苗产品的根本原因。目前认为，接种支原体全菌死或活疫苗引起的VED，是其超抗原、丝裂原、共同抗原等诱导的免疫应答使机体处于致敏状态所致。众所周知，抗原的免疫原性取决于抗原分子中的抗原表位，不同的抗原表位可有不同的免疫原性。因此，深入研究支原体诱导宿主免疫应答的分子机

制、筛选能诱导正常免疫应答的支原体抗原、鉴别同一抗原分子中诱导正常或病理性免疫应答的抗原表位，在此基础上采用新型疫苗研制技术，有可能研制出安全、有效的支原体疫苗。

（严　杰）

第十六章 衣 原 体

衣原体是一类严格真核细胞内寄生、有独特发育周期、能通过常用细菌滤器的原核细胞型微生物。早年被认为是病毒，后确定为一类独立的微生物类型，归属于广义的细菌学范畴。衣原体广泛寄生于人类、哺乳动物和禽类，但仅有少数衣原体种类引起人类沙眼、泌尿生殖道和呼吸道感染等疾病。

衣原体的共同特征是：①圆形或椭圆形体，大小0.2～0.5μm，革兰阴性；②同时含有DNA和RNA；③严格真核细胞内寄生，有独特的发育周期，二分裂方式繁殖；④具有类似革兰阴性菌的细胞壁；⑤有核糖体和较复杂的酶类，能独立进行一些代谢活动，但必须由宿主细胞提供所有代谢活动的能量来源；⑥对多种抗生素敏感。

衣原体科仅有一个属。根据抗原结构、DNA同源性、包涵体的性质、对磺胺类药物的敏感性等差异，将衣原体属（*Chlamydia*）分为4个种：沙眼衣原体（*C. trachomatis*）、肺炎衣原体（*C.pneumoniae*）、鹦鹉热衣原体（*C. psittaci*）和兽类衣原体（*C. pecorum*）。4种衣原体特性见表16-1。

表16-1 四种衣原体的主要特点

性 状	沙眼衣原体	肺炎衣原体	鹦鹉热衣原体	兽类衣原体
自然宿主	人、小鼠	人	鸟类、低等哺乳类	牛、羊
引起的主要人类疾病	沙眼、性传播疾病、肺炎	肺炎、呼吸道感染	肺炎、呼吸道感染	呼吸道感染
原体形态	圆、椭圆	梨形	圆、椭圆	圆
包涵体糖原	+	–	–	–
血清型	18个	1个（TWAR株）	不明	3个
同种DNA同源性(%)	> 90%	> 90%	14%～95%	> 88%
异种DNA同源性(%)	< 10%	< 10%	< 10%	< 12%
对磺胺的敏感性	敏感	不敏感	不敏感	不敏感

TWAR：Taiwan acute respiratory

Chlamydia is a group of obligate intracellular organisms. The general properties of *Chlamydia* are as follows：a）they replicate by binary fission with a special growth cycle；b）they possess a rigid cell wall that is similar to Gram-negative bacteria；c） A chlamydia has two distinct structures in life cycle called as elementary body and initial body，and the former is an infectious；d）the size of elementary body is intermediate between bacteria and viruses while that of initial body is similar to bacteria；e）they possess both DNA and RNA，and ribosomes and partial metabolic enzymes；f）they are sensitive to many antibiotics.

Chlamydia is commonly parasitic in humans，mammal animals and birds. However，only a few species of *Chlamydia* are pathogenic to humans. The genus of *Chlamydiae* includes four species：

C. trachomatis, *C. pneumoniae*, *C. Psittaci* and *C. pecorum*. The former three (*C. trachomatis*, *C. pneumoniae* and *C. Psittaci*) can cause infectious diseases of human beings such as trachoma, urethritis, lymphogranuloma venereum (LGV) and psittacosis. Recent research data suggested that *C. trachomatis* is associated with uterine cancer and *C. pneumoniae* is related to the generation of chronic coronary heart disease and arteriosclerosis.

The pathogenic mechanism of chlamydial infection is very complex and still not clear yet. Chlamydia can adhere to host cells and inhibit cellular metabolism, and induce inflammatory reaction and hypersensitivity of hosts. All genomes of *Chlamydia* species possess the genes responsible for synthesis of endotoxin-like substance (ELS), which considered as the major virulence factor of the microbes.

Innate immunity plays an important role in anti-chlamydial infection. When individuals are infected with some certain *Chlamydia* spp., adaptive humoral and cellular immunity can be evoked. However, the adaptive immunity has little protective effect.

Clinical diagnosis of chlamydial infection mainly depends on laboratory examination. Many antibiotics such as erythromycin, deoxycycline and acheomycin can be used to cure chlamydial infectious diseases. Although much efforts have been made, so far no practical vaccines for preventing chlamydial infection can be available.

衣原体在宿主细胞内生长繁殖时，有独特的发育周期，可呈现为两种形态：原体（elementary body，EB）和始体（initial body）。原体为小球形，直径0.2～0.4μm，有细胞壁，吉姆萨法染成蓝色，Macchiavello法染成红色，电镜下可见致密的核质和少量核糖体，无繁殖能力，但有感染性，在细胞外时较为稳定。始体又称网状体（reticulate body，RB），大球形，直径0.5～1.2μm，无细胞壁，吉姆萨法和Macchiavello法均染成蓝色，无致密核质，但有纤细网状结构，能以二分裂方式形成子代原体，无感染性，主要存在于细胞内，细胞外很快死亡。原体首先以硫肝素（heparan sulfate）吸附于易感上皮细胞，然后通过吞噬或吞饮作用、受体介导的内吞三种方式侵入细胞。由于原体进入细胞后初期阶段大多形成囊泡，故认为受体介导的内吞是最主要的侵入细胞方式。细胞内原体一般经8～12小时发育成始体，24～36小时后开始分裂繁殖，30～45小时发育为子代原体，48～72小时感染细胞破裂释放子代原体（图16-1）。沙眼衣原体始体和子代原体均有膜包绕，内含糖原，在胞浆内多种形态的包涵体（inclusion body）。若有多个原体同时感染一个细胞，沙眼衣原体的始体往往互相融合形成一个包涵体，鹦鹉热衣原体的始体不互相融合而形成多房性包涵体。一个原体侵入细胞后，一般可形成16～24个子代原体。

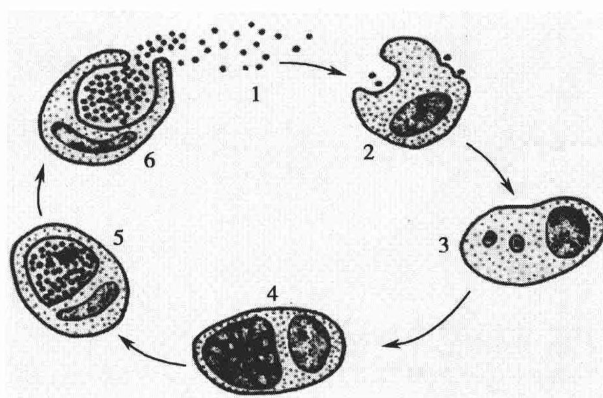


图16-1 衣原体的发育周期

1. 原体；2. 原体吸附并进入易感细胞；3. 发育成始体；4. 分裂繁殖；5. 发育成子代原体；6. 释放子代原体

常用6～8天龄鸡胚卵黄囊接种法培养衣原体。HeLa-229、McCoy、BHK-21和HL细胞是常用于培养衣原体的传代细胞株，但接种衣原体后，往往需3000r/min离心60分钟，以帮助衣原体吸附细胞，培养液中常加入1μg/ml放线菌酮，以抑制细胞的生长。此外，沙眼衣原体性病淋巴肉芽肿亚种可接种于小鼠脑内、鹦鹉热衣原体接种于小鼠腹腔进行培养。

衣原体有属特异性、种特异性和型特异性三种抗原。属特异性抗原位于细胞壁，化学本质为脂多糖，但缺乏O-多糖和部分核心多糖，仅有一个属特异性抗原决定簇，可用补体结合试验和免疫荧光法检测。种特异性抗原为相对分子质量40×10^3的衣原体主要外膜蛋白（major outer membrane

protein，MOMP），MOMP占外膜总蛋白的60%以上，可用补体结合试验和中和试验检测。型特异性反映了MOMP氨基酸序列不同而导致的抗原性差异，据此可将沙眼衣原体沙眼亚种分为14个血清型、性病淋巴肉芽肿亚种分为4个血清型。

临床上常见的衣原体感染性疾病为沙眼、非淋菌性尿道炎、性病淋巴肉芽肿、支器官炎、肺炎、鹦鹉热等。内毒素样物质（endotoxin-like substance，ELS）是衣原体主要致病物质。衣原体感染所引起的宿主病理性免疫应答，也是衣原体重要的致病机制之一，MOMP被认为是诱导病理性免疫反应的主要抗原。

衣原体不耐热，60℃仅存活5～10分钟。耐低温，-70℃可保存数年，冷冻干燥可保存数十年。75%乙醇0.5分钟、2%甲酚皂5分钟均可杀死衣原体。临床上常用红霉素、多西环素和磺胺类等药物进行治疗。

第一节 沙眼衣原体

沙眼衣原体（*C. trachomatis*）感染可引起人类沙眼，也是非淋菌性尿道炎（NGU）最主要的病原体。根据所致疾病及某些生物学性状的差异，沙眼衣原体可分为3个亚种：沙眼生物亚种（Biovar trachoma）、性病淋巴肉芽肿亚种（Biovar lymphogranuloma venereum，LGV）和鼠亚种（Biovar mouse）（表16-2），其中鼠亚种不引起人类疾病。沙眼衣原体除鼠亚种来自鼠类外，人是沙眼生物亚种和性病淋巴肉芽肿亚种唯一的自然宿主。

表16-2 沙眼衣原体三个亚种特性的比较

特 性	沙眼生物亚种	性病淋巴芽肿亚种	鼠亚种
自然宿主：人	+	+	+
小鼠	–	–	+
易感部位：鳞状上皮细胞	+	–	–
淋巴组织*	–	+	–
单核细胞	–	+	–
McCoy细胞培养的阳性率	70%～80%	< 50%	不明
血清型数目	14	4	不明
小鼠脑内接种致死性	–	+	–
灵长类滤泡性结膜炎	+	–	–
与沙眼亚种DNA同源性	/	100%	30%～60%

一、生物学性状

形态与染色 不同发育周期其形态、大小和染色性不一。原体呈球形或椭圆形，直径约0.3μm，吉姆萨法染成紫红色，胞浆膜外有刚性细胞壁，类似于革兰阴性菌细胞壁，但无肽聚糖。始体为0.5～1.0μm，形状不规则，吉姆萨法染成蓝色，无细胞壁。可在宿主细胞浆内形成包涵体（图16-2），吉姆萨法可将包涵体染成深紫色，因含有糖原可被碘液染成棕褐色。

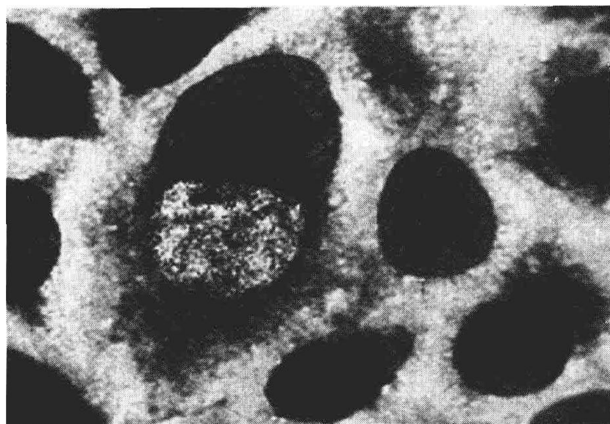
培养特性 我国学者汤飞凡（1897～1958）于1955年采用鸡胚卵黄囊接种法首次分离出沙眼衣原体。目前常用鸡胚卵黄囊接种以及McCoy、HeLa-229、BHK-21细胞培养沙眼衣原体。

抗原构造和分型 沙眼衣原体的细胞壁主要有三种抗原。

1. 属特异性抗原 为细胞壁中的糖脂，为衣原体属4个种的共同抗原。

2. 种特异性抗原 为细胞壁外膜上相对分子质量40×10^3的衣原体主要外膜蛋白（MOMP），MOMP氨基酸序列中有5个保守区，4个可变区。不同沙眼衣原体亚种均有MOMP，其抗原决定簇易发生变异。

3. 型特异性抗原 不同沙眼衣原体亚种的MOMP分子中抗原表位及空间构型有差异，应用单克隆抗体微量免疫荧光法可将沙眼衣原体分成18个血清型，其中沙眼生物亚种有A、B、Ba、C、D、


图16-2 沙眼衣原体在宿主细胞内形成的包涵体

Da、E、F、G、H、I、Ia、J和K共14个血清型，性病淋巴肉芽肿亚种有L1、L2、L2a和L3共4个血清型，鼠亚种分型不明。沙眼生物亚种D、E血清型与性病淋巴肉芽肿亚种L1、L2、L2a和L3血清型有较弱的抗原交叉。

基因组 沙眼衣原体沙眼生物亚种D/UW-3/CX株染色体为一个1042519bp的环状DNA。

抵抗力 对热、常用消毒剂抵抗力均较弱，对低温抵抗力强。对红霉素等大环内酯类和多西环素等四环素类抗生素敏感。

二、致病性与免疫性

致病物质 除ELS和MOMP外，热休克蛋白（heat shock protein，HSP）被认为与免疫病理损伤有关，其他致病物质不明。

1. 内毒素样物质（ELS） 沙眼衣原体细胞壁中的脂多糖具有与革兰阴性菌内毒素相似的毒性，可抑制宿主细胞代谢，直接损伤宿主细胞。

2. 主要外膜蛋白（MOMP） 细胞内含原体的囊泡若与溶酶体结合，衣原体则被杀死，MOMP能阻止原体囊泡与溶酶体结合，使衣原体在囊泡内得以生长繁殖。此外，MOMP易发生变异，使衣原体得以逃避机体免疫系统对其的清除作用，也可使机体已经建立的免疫力丧失保护作用而再次感染。此外，MOMP可诱导宿主病理性免疫应答。

3. 热休克蛋白（HSP） 沙眼衣原体HSP可诱导Ⅳ型变态反应。

所致疾病 沙眼衣原体不同生物亚种及其血清型可引起多种不同的疾病。靶细胞是女性和男性眼结膜、直肠、泌尿道上皮细胞，女性子宫颈及上部生殖道扁平柱状上皮细胞，男性附睾、前列腺上皮细胞，以及新生儿呼吸道上皮细胞。除ELS和MOMP有较为明确的致病性外，沙眼衣原体感染诱导的炎症反应、寄生的宿主细胞裂解、Ⅳ型变态反应等均参与致病过程。眼和生殖道感染的急性炎症消退时，由黏膜下淋巴细胞和巨噬细胞组成的淋巴滤泡开始形成，并随病情进展发生坏死，上皮和纤维组织的增生可导致瘢痕形成。

（一）沙眼生物亚种

1. 沙眼 由A、B、Ba和C血清型感染所致。主要通过眼-手-眼途径或直接及间接接触传播，常见传播媒介有玩具、公用毛巾和洗脸盆等。沙眼衣原体侵袭眼结膜上皮细胞后，在其中增殖并在胞浆内形成散在型、帽型、桑椹型或填塞型包涵体。沙眼发病缓慢，早期出现眼睑结膜急性或亚急性炎症，表现为流泪、黏液脓性分泌物、结膜充血等症状与体征。后期移行为慢性，出现结膜瘢痕、眼睑内翻、倒睫、角膜血管翳引起的角膜损害，影响视力甚至导致失明，是目前致盲的首位病因。

2. 包涵体结膜炎 由沙眼生物亚种B、Ba、D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J和K血清型感染所致。病变类似沙眼，但不出现角膜血管翳，也无结膜瘢痕形成，一般经数周或数月后痊愈，无后遗症。临床上分新生儿包涵体结膜炎和成人包涵体结膜炎两种。前者经产道感染，引起急性化脓性结膜炎，又称包涵体脓漏眼，不侵犯角膜，能自愈。后者经眼-手-眼途径或接触污染的游泳池水而感染，引起滤泡性结膜炎，俗称游泳池结膜炎。

3. 泌尿生殖道感染 感染的血清型与包涵体结膜炎相同。主要经性接触途径传播，也可经非性接触方式感染，引起非淋菌性尿道炎（NGU），可分为无症状和有症状两类。约有2/3女性和1/2男性感染后无明显症状，若发展为持续无症状感染，常成为重要的传染源。部分感染者可出现临床症状，症状可因感染部位及感染者性别不同而异，常见有泌尿生殖道分泌物异常、尿痛、尿灼热感、下腹

痛或性交痛。男性患者通常是尿道炎，未经治疗者多转变为慢性感染，周期性加重，或合并附睾炎和前列腺炎。女性患者为尿道炎、宫颈炎、输卵管炎和盆腔炎等。孕妇感染后可引起胎儿或新生儿感染，偶可引起胎儿死亡。常与淋病奈瑟球菌的混合感染，淋病奈瑟球菌可促进衣原体繁殖。

4. 沙眼衣原体肺炎 D、Da、E、F、G、H、I、Ia、J和K血清型感染所致，多见于婴儿。

（二）性病淋巴肉芽肿亚种

1. 性病淋巴肉芽肿 L1、L2、L2a和L3血清型感染所致。通过性接触途径传播，主要侵犯淋巴组织。在男性侵犯腹股沟淋巴结，引起化脓性淋巴结炎和慢性淋巴肉芽肿，常引起瘘管。在女性侵犯会阴、肛门和直肠，可形成肠-皮肤瘘管，也可引起会阴-肛门-直肠狭窄和梗阻。严重者表现为广泛的全身症状和急性炎症，伴有会阴组织大面积损伤的慢性生殖器溃疡。

2. 眼结膜炎 少见，但常伴有耳前、颌下和颈部淋巴结肿大。

免疫性 沙眼衣原体为胞内寄生的病原体，故通常以细胞免疫为主，体液免疫也有一定作用。无论何处感染，首先是淋巴细胞、巨噬细胞、浆细胞和嗜酸性粒细胞浸润，随后发生局部中性粒细胞聚集。MOMP可激活$CD4^+$T细胞，释放细胞因子以抑制细胞内衣原体包涵体的发展。特异性中和抗体可以抑制衣原体吸附于宿主细胞。MOMP可诱导中和抗体产生，但也有人认为该抗体仅有抑制原体在细胞内发育的作用。沙眼衣原体感染过程中，机体可出现Ⅳ型变态反应造成的免疫病理损伤，如感染部位的水肿、硬化和溃疡等。沙眼衣原体感染后特异性免疫力不强，抗体持续时间短暂，易造成持续感染和反复感染。

三、微生物学检查法

标本采集 急性沙眼或包涵体结膜炎多以临床诊断为主。对不能进行明确临床诊断的患者，可根据不同疾病采取不同标本进行微生物学检查。沙眼或结膜炎患者可取眼结膜刮片、眼穹窿或眼结膜分泌物涂片。泌尿生殖道感染患者可采用泌尿生殖道拭子、宫颈刮片、精液或尿液。性病淋巴肉芽肿患者取淋巴结脓液、生殖器或直肠溃疡标本。采集的标本接种于含抗生素的蔗糖磷酸盐输送培养基中快速送检，或加入蔗糖-磷酸盐-谷氨酸盐（SPG）培养基置-70℃或液氮中暂存。2小时内进行分离培养的标本，衣原体阳性分离率较高。性病淋巴肉芽肿亚种易在传代细胞中生长，接种前一般不需要特殊的处理。

病原学检查

1. 直接涂片染色镜检 采用吉姆萨染料、碘液或荧光抗体等染色，镜下检查黏膜上皮细胞内是否有包涵体。

2. 分离培养 将标本接种于鸡胚卵黄囊或传代细胞。接种标本的传代细胞-35℃培养48～72小时后，可用染色后镜检、直接免疫荧光法、ELISA等进行检查。

3. 分子生物学检查 除PCR和核酸探针杂交外，新近发展起来的连接酶链反应（ligase chain reaction，LCR）可明显提高检测敏感性和特异性。

4. 动物接种 性病淋巴肉芽肿亚种接种于小鼠脑内，可引起脑膜脑炎。

血清学检查 由于沙眼衣原体多为慢性感染，特异性中和抗体效价往往不高，患者常无明显的急性期和恢复期，无法进行抗体效价动态比较，因而在临床诊断中价值不大。全身急性及深部组织感染的性病淋巴肉芽肿患者，可用ELISA检测性病淋巴肉芽肿生物亚种L1或L2抗原（含沙眼衣原体共同抗原）的抗体。

四、防治原则

目前无特异性的沙眼预防方法，主要应注意个人卫生，不使用公共毛巾、浴巾和脸盆，避免直接或间接接触传染源。预防泌尿生殖道感染主要措施有广泛开展性病知识宣传、加强自我保护意识、提倡健康的性行为、积极治疗沙眼衣原体感染的患者和携带者等。沙眼衣原体血清型众多，MOMP

抗体虽对同一血清型沙眼衣原体感染有免疫保护作用，但对其他血清型往往无交叉保护性，故易于反复感染。

由于沙眼衣原体抗原构造复杂，主要抗原易于变异，易引起Ⅳ型变态反应，故目前尚无沙眼衣原体疫苗产品。临床上主要采用磺胺类、大环内酯类和喹诺酮类抗生素进行治疗。新生儿可在出生时使用0.5%红霉素眼膏或1%硝酸银滴眼，以预防新生儿眼结膜炎。

第二节 肺炎衣原体

肺炎衣原体（*C. pneumoniae*）只有TWAR一个血清型，是近年发现的一个衣原体新种。1965年从台湾一名小学生的眼结膜标本中分离到一株衣原体，命名为Taiwan-183（TW-183）。1983年从美国西雅图急性呼吸道感染大学生的咽部标本中分离出一株衣原体，命名为Acute respiratory-39（AR-39）。后发现TW-183和AR-39为一个衣原体新种同一血清型的两个不同分离株，故于1986年各取两株衣原体两个缩写字母而被命名为TWAR血清型。

一、生物学性状

形态与染色　平均直径为0.38μm，在电镜下呈梨形，感染细胞中形成无糖原的包涵体（图16-3）。

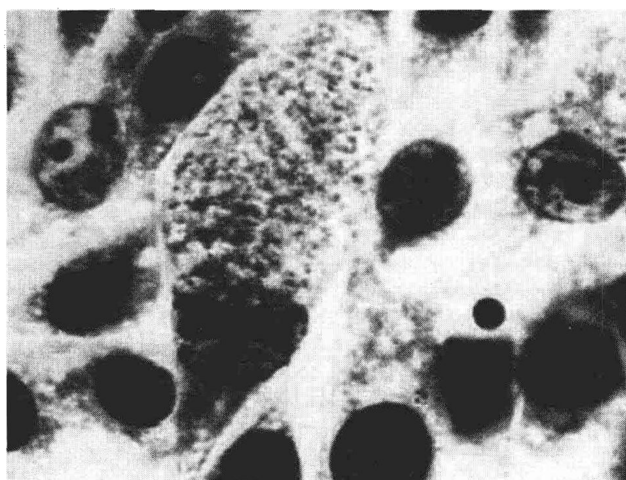


图16-3　肺炎衣原体在宿主细胞内形成的包涵体

培养特性　用HeLa和Hep-2细胞株较易分离和传代，但第一代细胞培养中不易形成包涵体。

抗原构造　相对分子质量98×10^3外膜蛋白为特异性抗原。只有一个血清型，不同菌株98 kDa外膜蛋白序列完全相同，其单克隆抗体与沙眼衣原体及鹦鹉热衣原体无交叉反应。

基因组　肺炎衣原体染色体为一个1225935～1230230bp的环状DNA。不同来源的TWAR株基因组序列同源性均为94%以上，与沙眼衣原体和鹦鹉热衣原体基因组同源性均小于10%。

抵抗力　易受各种理化因素影响，抵抗力较弱。对红霉素、诺氟沙星、多西环素等敏感，对磺胺类耐药。

二、致病性与免疫性

致病物质　除内毒素样物质（ELS）外，其他致病物质不明。有实验证明，肺炎衣原体ELS具有细胞毒性（cytotoxicity）。

所致疾病　目前认为人类是肺炎衣原体的唯一宿主。肺炎衣原体主要寄生于人类的呼吸道，人与人之间经飞沫或呼吸道分泌物传播。肺炎衣原体感染扩散速度较为缓慢，具有散发和流行交替出现的特点，在人群中流行可持续6个月左右。主要引起青少年、尤其儿童的急性呼吸道感染，如咽炎、鼻窦炎、支气管炎和肺炎等。潜伏期平均30天左右，起病缓慢，临床表现为咽痛、声音嘶哑、发热、咳嗽和气促等症状，发热不常见，外周白细胞计数正常，部分患者可发展为支气管炎和肺炎。肺炎患者病程持续1～2周后，上呼吸道感染症状消失，但咳嗽加重，可持续1至2个月，部分患者伴有结膜炎。全身严重感染者少见，但部分患者病后出现哮喘症状。

有一定的研究证据表明，肺炎衣原体感染可引起心包炎、心肌炎、心内膜炎、红斑结节、甲状

腺炎、格林巴利综合征等肺外疾病。近年还发现肺炎衣原体感染与慢性冠心病和急性心肌梗死发病有关，患者冠状动脉和主动脉硬化斑中观察到梨形结构的肺炎衣原体，其病理切片用肺炎衣原体特异性单克隆抗体检测后呈阳性结果，病变局部还存在肺炎衣原体相关抗原-抗体免疫复合物，但需更多的相关研究资料方能确定肺炎衣原体与上述肺外疾病的关系。

免疫力　肺炎衣原体抗感染免疫以细胞免疫为主，体液免疫为辅。病后有相对牢固的特异性免疫力。

三、微生物学检查法

标本采集　通常取咽拭或支气管肺泡灌洗液标本，也可取痰液标本。痰液和咽拭可直接制备涂片，灌洗液宜用膜式滤菌器去除杂质。若进行血清学检查，则取患者外周血及其血清标本。

病原学检查

1. 分离培养　因痰液标本对细胞有毒性，故常用咽拭或支气管肺泡灌洗液标本进行病原体分离培养。肺炎衣原体易在HeLa和Hep-2细胞中生长，McCoy细胞中生长不良。ELISA或直接免疫荧光法可用于培养物的鉴定，也可直接用于检测涂片标本中的肺炎衣原体。

2. 分子生物学检查　可用PCR和核酸探针杂交进行检测。

血清学检查

1. 微量免疫荧光试验　检测患者血清中的特异性IgM和IgG。若单份血清IgM效价大于1∶16或IgG效价大于1∶512、双份血清抗体效价增高4倍或以上，可确诊为急性感染。

2. ELISA　检测患者血清中肺炎衣原体特异性抗体，但阳性率低，故应用较少。

四、防治原则

隔离患者，避免直接接触感染者，加强个人防护。目前尚无疫苗进行特异性预防。临床上主要采用红霉素等大环内酯类、诺氟沙星等喹诺酮类、多西环素等四环素类抗生素进行治疗，磺胺类药物无效。

第三节　鹦鹉热衣原体

鹦鹉热衣原体（*C. psittaci*）首先分离于鹦鹉体内，尔后陆续从鸽、鸭、火鸡、海鸥和相思鸟等130种鸟类和禽类体内分离出此种衣原体。人类通过吸入鹦鹉热衣原体或密切接触病禽而引起呼吸道感染，临床上称之鹦鹉热（psittacosis）或鸟疫（ornithosis）。

一、生物学性状

鹦鹉热衣原体圆形或椭圆形，直径约0.3μm。在宿主细胞增殖时形成疏松的多房性包涵体，其他生物学特性见表15-1。鹦鹉热衣原体在鸡胚卵黄囊、HeLa细胞株和Vero细胞中均可生长，小鼠为易感动物。

鹦鹉热衣原体能产生一种红细胞凝集素，为卵磷脂核蛋白复合物，能凝集小鼠和鸡的红细胞，特异性抗体和钙离子可抑制该红细胞凝集作用。

二、致病性与免疫性

鹦鹉热为自然疫源性人兽共患病。在禽类和鸟类中多为隐性持续性感染，甚至终生携带，但可通过呼吸道分泌物和粪便传染给人类和其他哺乳动物。通过垂直、蚊子叮咬和粪口等途径，鹦鹉热衣原体可在哺乳动物中传播，引起猪、羊等动物的流产及腹泻。人类主要引起呼吸道感染，近年也有文献报道可引起心内膜炎，但未发现有人与人之间的传播。

鹦鹉热患者潜伏期为1～2周。临床表现多为骤然发病，寒战、发热、咳嗽和胸痛，继而可发展为肺炎，可有菌血症。也有缓慢发病或隐性感染者，缓慢发病者通常出现持续1～3周的发热，白细胞减少，有肺炎体征。

以细胞免疫为主。感染一周后可产生抗体，应用抗生素可抑制或推迟抗体产生的时间。

三、微生物学检查法

采用患者痰液和血液标本。痰液标本需加链霉素处理以减少杂菌，然后接种于小鼠腹腔、鸡胚卵黄囊、HeLa细胞和Vero细胞，常规染色镜检。也可用ELISA、核酸探针直接检查标本中的病原体及其成分。血清学检查主要采用补体结合试验。

四、防治原则

严格控制传染源，对观赏、比赛和食用的鸟类或禽类要加强管理，避免发生鹦鹉热传播和流行。对从事禽类加工和运输的人员应注意个人防护。进口的禽类要检疫，尤其对隐性感染的禽类更应引起注意。采用四环素类、大环内酯类和喹诺酮类抗生素治疗，磺胺类药物无效。

展 望

衣原体感染引起的疾病种类繁多，往往涉及人体多个不同的组织和器官，如可引起眼、泌尿生殖道、呼吸道、心内膜炎等疾病，也可引起胎儿先天性感染；也与心血管、皮肤、腺体、多发性肉芽肿等密切相关；鹦鹉热衣原体主要引起呼吸道感染。另一方面，衣原体隐性感染常见，且可与其他病原微生物协同致病，这给衣原体感染性疾病的预防和控制乃至临床诊断带来极大的困难。此外有文献报道，蜱可作为沙眼衣原体储存宿主和传播媒介，以往认为人类是肺炎衣原体的唯一宿主，但近年从马和考拉树熊体内发现肺炎衣原体。因此，有必要加强衣原体流行病学和临床方面的研究。

ELS和MOMP已被肯定为衣原体的主要毒力因子，但目前对衣原体其他致病物质以及致病机制的了解极为有限。例如，原体有传染性而无繁殖能力、始体有繁殖能力而无传染性，处于不同发育周期同一衣原体的生物学功能有如此大的差异，其蛋白质组学和分子生物学基础值得研究。近年细胞微生物学研究已取得重大进展，病原微生物与宿主细胞的相互作用决定了感染的不发生或发生及其结局。例如，宿主细胞内含沙门菌的吞噬泡不能与溶酶体融合，志贺菌侵入宿主细胞后能通过自行溶解吞噬泡膜的特殊方式阻断与溶酶体的融合，使之可在细胞内生存甚至繁殖。衣原体MOMP也有类似阻止溶酶体融合的作用，使得衣原体在囊泡内得以生长繁殖。显然阻断溶酶体融合决非个别病原微生物特有的功能，但所涉及的分子毒力基础及其作用机制至今不明。衣原体感染时除引起炎症外，可引起一些宿主细胞的增殖，且细胞增殖参与病理过程。细胞丝裂原活化蛋白激酶（MAPK）信号传导通路在肿瘤发生中的重要作用已为人们所熟知，但近年有文献报道，衣原体内化时由MAPK通路传递信号。目前已知，MAPK通路有ERK、JNK、p38MAPK三条主要支路，各支路介导的主要生物学效应颇有差异，如ERK支路介导细胞增殖和分化，JNK和p38MAPK支路介导细胞应激和炎症反应。衣原体感染时炎症反应和细胞增殖并存，衣原体感染时启动宿主细胞信号通路的分子机制以及相关信号通路活化与疾病发生和发展关系等，均有待于深入研究。

传统观念认为病原微生物仅引起传染性疾病，但目前越来越多的证据显示，某些病原微生物感染与非传染性疾病发病关系密切。例如，冠状动脉和主动脉等粥样硬化斑块病灶泡沫细胞中肺炎衣原体检测阳性率较高，病变局部存在肺炎衣原体相关抗原-抗体免疫复合物。众所周知，动脉粥样硬化和冠心病是人类重大疾病，若肺炎衣原体感染确实与上述非传染性疾病发病有关，不仅在此类疾病发病机制及临床诊治上获得突破性进展，也使得研发特异性预防性疫苗成为可能，但目前需要迫切解决的问题是，肺炎衣原体感染与动脉粥样硬化和冠心病之间的因果关系。

与肺炎支原体和人类免疫缺陷病毒、人呼吸道合胞病毒等相似，沙眼衣原体或鹦鹉热衣原体全菌死疫苗接种后，也可引起疫苗接种增强性疾病（vaccination enhance disease， VED）。业已肯定，衣原体MOMP是引起VED的主要因子。因此，以蛋白分子为抗原的基因工程疫苗也无法解决此类病原微生物的VED问题。一个蛋白抗原分子往往含有不同性质的抗原表位（antigenic epitope），若不同性质抗原表位可分别诱导正常或病理性免疫应答，则有可能以诱导正常免疫应答的抗原表位为基础研制表位肽疫苗。

（严 杰）

第十七章 螺 旋 体

螺旋体（spirochete）是一类细长、柔软、弯曲、运动活泼的原核细胞型微生物，生物学地位介于细菌与原虫之间。由于螺旋体的基本结构及生物学性状与细菌相似，如有原始核质、类似革兰阴性菌的细胞壁、二分裂方式繁殖及对多种抗生素敏感等，故生物分类学上将螺旋体列入广义的细菌学范畴。

螺旋体在自然界和动物体内广泛存在，种类繁多，其中部分螺旋体可引起人类疾病（表17-1）。分类的主要依据是其大小、螺旋数目、螺旋规则程度和螺旋间距。对人致病的螺旋体主要分布在如下三个属：钩端螺旋体属、密螺旋体属和疏螺旋体属。

表17-1 螺旋体目的分类及致病性螺旋体种类

科	属	致病性种类	疾病	传播方式或媒介
螺旋体科	螺旋体			
	蛇形螺旋体			
	脊螺旋体			
	密螺旋体	苍白密螺旋体苍白亚种	梅毒	性传播
		苍白密螺旋体地方亚种	地方性梅毒	黏膜损伤
		苍白密螺旋体极细亚种	雅司病	皮肤损伤
		品他螺旋体	品他病	皮肤损伤
	疏螺旋体	伯氏疏螺旋体	莱姆病	硬蜱
		回归热疏螺旋体	流行性回归热	体虱
		赫姆疏螺旋体	地方性回归热	软蜱
		奋森疏螺旋体	多种口腔感染	条件致病
钩端螺旋体科	钩端螺旋体	问号钩端螺旋体	钩端螺旋体病	接触疫水
	细丝体			

1. 钩端螺旋体属（*Leptospira*） 螺旋细密规则，一端或两端弯曲成钩状，故名钩端螺旋体，其中问号钩端螺旋体等致病性钩端螺旋体对人和动物致病。

2. 密螺旋体属（*Treponema*） 螺旋较为细密规则，两端尖细，其中苍白密螺旋体苍白亚种、苍白密螺旋体极细亚种和品他螺旋体对人致病。

3. 疏螺旋体属（*Borrelia*） 有3～10个稀疏不规则的螺旋，呈波纹状，其中伯氏疏螺旋体、回归热疏螺旋体、赫姆疏螺旋体和奋森疏螺旋体对人致病。

The spirochetes are a large, heterogeneous group of spiral, motile microorganisms. The basic structures and biological characteristics of the microorganisms are similar to those of bacteria. For example, they have cell wall and propagate by binary fission, vigorous motion based on endoflagella with rotation and twisting manner, and susceptibility to many different antibiotics. So the position of spirochetes in biology is intermediate between bacteria and protozoa. Generally spirochete belongs to

bacteriology in taxonomy.

Members in three genera of spirochetes, *Treponema*, *Borrelia*, and *Leptospira*, are closely involved in human and animal diseases. *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* is the causative agent of syphilis, a serious sexually transmitted disease (STD). Lyme disease and relapsing fever, the two principal human diseases, are the results of infection with *Borrelia* species. The former is caused by *Borrelia burgdorferi* and the latter is caused by *Borrelia recurrentis*. Pathogenic *Leptospira* species cause leptospirosis in humans and animals, and this disease is an important world-spread zoonoses.

Although motility of endoflagella, capsule, lipopolysaccharides, invasive enzymes and adhension in envelope have been well confirmed as virulent factors of the pathogenic spirochetes, immunopathological response caused by spirochetal infection in hosts is also proved to participate in the pathogenesis. However, many questions about the pathogenic mechanism of the spirochetes remain unanswered. Humoral immunity is primary in spirochete infections, while recent data show that cellular immunity is also important.

第一节 钩端螺旋体属

钩端螺旋体隶属于螺旋体目（Spirochaetales）钩端螺旋体科（Leptospiraceae）钩端螺旋体属（*Leptospira*）。钩端螺旋体属可分为以问号钩端螺旋体（*L. interrogans*）为代表的致病性钩端螺旋体及以双曲钩端螺旋体（*L. biflexa*）为代表的非致病性钩端螺旋体两大类。钩端螺旋体病是全球性分布的人畜共患病，我国除新疆、西藏、青海、宁夏和甘肃尚未肯定有钩端螺旋体病流行外，其余地区均有钩端螺旋体病的流行，因而该病是我国重点监控和防治的传染病之一。

一、生物学性状

形态与染色　菌体纤细，长6～12μm，宽0.1～0.2μm，菌体一端或两端弯曲使菌体呈问号状或C、S形。钩端螺旋体基本结构由外至内分别为外膜、细胞壁、内鞭毛（endoflagellum）及细胞膜包绕的柱形原生质体（cytoplasmic cylinder）。内鞭毛由6种不同蛋白聚合而成，分别由菌体两端各伸出一根内鞭毛，位于内、外膜之间，紧缠于柱形原生质体表面，使钩端螺旋体呈现为特征性的沿菌体长轴旋转运动。革兰染色阴性，但不易着色。钩端螺旋体镀银染色效果较好，菌体被染成棕褐色（图17-1A）且因菌体的折光性较强，故常用暗视野显微镜观察（图17-1B）。

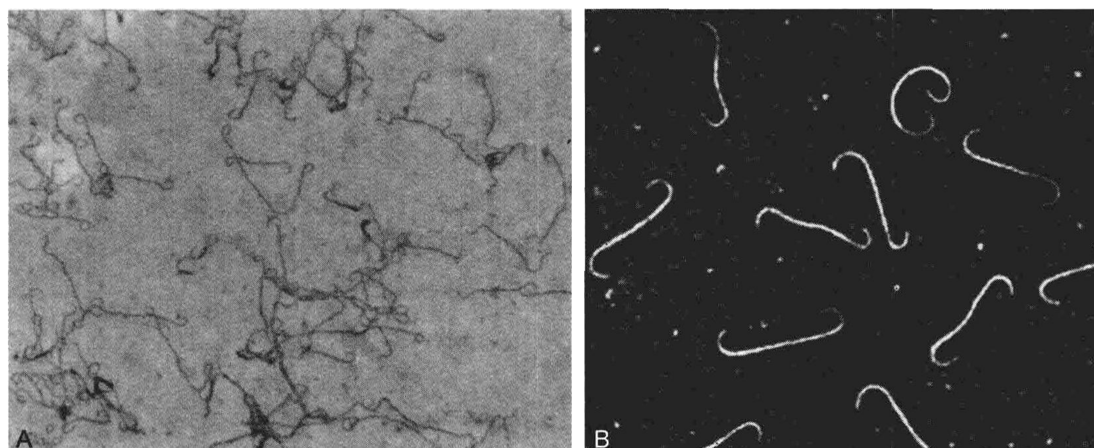


图17-1　感染动物尿液（A）及培养基中（B）的钩端螺旋体
A. 镀银染色（光学显微镜，×1000）；B. 悬滴标本（暗视野显微镜，×1000）

培养特性　需氧或微需氧。营养要求较高，常用培养基为含10%兔血清的Korthof培养基，也可用无血清的EMJH培养基培养，最适生长温度为28～30℃，最适pH为7.2～7.4。生长缓慢，在液体培养基中分裂一次约需8小时，28℃培养一周后呈半透明云雾状，但菌数仅为普通细菌的1/10～1/100。在固体培养基上，28℃培养两周后可形成半透明、不规则、直径1～2mm的扁平菌落。

抗原构造和分类　钩端螺旋体主要有属特异性蛋白抗原（genus-specific protein antigen，GP-AG）、群特异性抗原（serogroup-specific antigen）和型特异性抗原（serovar-specific antigen）。属特异性抗原可能是糖蛋白或脂蛋白，群特异性抗原系菌体为脂多糖复合物，型特异性抗原为菌体表面的多糖与蛋白复合物。应用显微镜凝集试验（microscopic agglutination test，MAT）和凝集吸收试验（agglutination absorption test，AAT），可将钩端螺旋体属进行血清群和血清型的分类。目前国际上将致病性钩端螺旋体至少分为25个血清群、273个血清型，其中我国至少存在19个血清群、75个血清型。近年来，国际上开始采用基因种分类，其中致病性钩端螺旋体分为*L. interrogans*，*L. borgpetersenii*，*L. kirschneri*，*L.noguchii*，*L. weilii*，*L. santarosai*和*L. meyeri*七个基因种。血清学分类和基因种分类差异较大，目前临床上仍然采用血清学分类法。

基因组及其特点　至今公布了三株钩端螺旋体全基因组序列。我国科学家率先完成了问号钩端螺旋体黄疸出血群赖型赖株全基因组测序和注释工作，研究结果发表于2003年国际著名学术期刊《Nature》上。与绝大多数原核细胞型微生物不同，赖株问号钩端螺旋体有大（4332241bp）、小（358943bp）两条环状染色体，其基因组可编码不少与真核细胞微生物或原虫相似的蛋白，表明钩端螺旋体介于细菌与原虫之间的生物学分类地位有其遗传学基础。无典型外毒素基因，但LPS合成与装配系统完善，溶血素、鞭毛、二元信号传导系统、Ⅱ型和Ⅲ型分泌系统相关基因众多。缺乏己糖磷酸激酶基因，故不能利用糖作为碳源。

抵抗力　抵抗力弱，60℃ 1分钟即死亡，0.2%甲酚皂、1%苯酚、1%漂白粉处理10～30分钟即被杀灭。对青霉素敏感。钩端螺旋体在酸碱度中性的湿土或水中可存活数月，这在疾病传播上有重要意义。

二、流行环节

钩端螺旋体病是一种典型的人兽共患病（zoonoses）。全世界至少发现约200余种动物可携带致病性钩端螺旋体，我国已从50余种动物中检出致病性钩端螺旋体，其中以黑线姬鼠及猪、牛为主要储存宿主。动物感染钩端螺旋体后，大多呈隐性或轻症感染，少数家畜感染后可引起流产。钩端螺旋体在感染动物的肾脏中长期存在并随尿液持续排出，污染水源和土壤形成自然疫源地。人类接触污染的水源或土壤而被感染。

钩端螺旋体病也是一种典型的自然疫源性传染病，由于地理环境和宿主动物分布差异，不同国家或地区优势流行的钩端螺旋体血清群、型有所不同。我国流行最为广泛的钩端螺旋体血清群为黄疸出血群，北方地区波摩那群流行也较为普遍，其次为流感伤寒、秋季、澳洲、七日热和赛罗群等。根据流行特征和传染源差异，可分为稻田型、雨水型和洪水型，稻田型主要传染源为野生鼠类，雨水型主要是家畜，洪水型两者兼之。由于钩端螺旋体水中长期存活及其疾病自然疫源性的特点，钩端螺旋体病是我国洪涝、地震等自然灾害中重点监控的传染病之一。

三、致病性与免疫性

致病物质　致病性钩端螺旋体不产生任何典型的细菌外毒素。目前倾向于内毒素是钩端螺旋体主要致病物质。此外，近年发现黏附素及溶血素也可能在钩端螺旋体病发病过程中发挥重要作用。

1. 黏附素　致病性钩端螺旋体能以菌体一端或两端黏附于细胞（图17-2），并可侵入细胞及诱导细胞凋亡或坏死，业已肯定的黏附素有外膜中相对分子质量为24×10^3和36×10^3蛋白以及钩端

螺旋体免疫球蛋白样蛋白（leptospiral immunoglobulin-like protein，Lig），24×10^3外膜蛋白受体为细胞胞外基质（extracellular matrix，ECM）中的层粘连蛋白（laminin，LN），36×10^3外膜蛋白和Lig蛋白受体为ECM中的纤维连接蛋白（fibronectin，FN）。

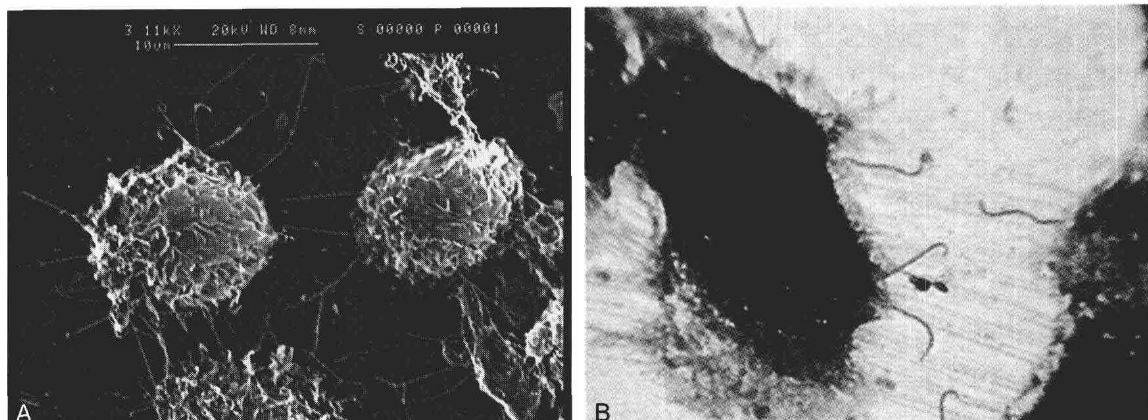


图17-2 黏附巨噬细胞（A）和Vero细胞（B）的钩端螺旋体
A. 扫描电镜（×2000）；B. Fontana镀银染色后光学显微镜检查（×1000）

2. 内毒素 重症钩端螺旋体病患者和实验感染动物可出现与革兰阴性菌内毒素反应相似的临床症状和病理变化，提示内毒素是钩端螺旋体主要致病物质，但钩端螺旋体内毒素中脂质A结构与典型的细菌内毒素有所差异，故毒性较弱。

3. 溶血素 不少致病性钩端螺旋体血清群能产生溶血素，可体外溶解人、牛、羊和豚鼠红细胞，注入体内能引起贫血、出血、肝肿大、黄疸和血尿。黄疸出血群赖株钩端螺旋体基因组中至少含有9个溶血素编码基因，其中*sphH*和*sph2*基因表达产物的溶血素活性已获得证实，SphH溶血素还对多种哺乳类细胞有毒性，其作用方式是在靶细胞膜上成孔（pore-forming），从而导致细胞膜损伤。

早年发现，一些致病性钩端螺旋体血清群能产生细胞毒性因子（cytotoxicity factor，CTF）和致细胞病变作用（cytopathic effect，CPE）物质，前者可引起小鼠成纤维细胞出现空泡、圆缩、脱落等病变，注入小鼠可导致肌肉痉挛和呼吸困难，后者可引起靶细胞退行性病变，但两者化学性质至今不明。

所致疾病 钩端螺旋体病患者主要是农民，以及一些临时进入疫区工作或旅行的人群。致病性钩端螺旋体能迅速通过破损或完整的皮肤、黏膜侵入人体，并经淋巴系统或直接进入血流引起钩端螺旋体血症，患者出现中毒症状如发热、乏力、头痛、肌痛、眼结膜充血、浅表淋巴结肿大等。继而钩端螺旋体随血流侵入肝、脾、肾、肺、心、淋巴结和中枢神经系统等，引起相关脏器和组织的损害和体征。由于钩端螺旋体的血清型别不一、毒力和数量不同以及宿主免疫力差异，感染者临床表现差异很大。轻者似感冒，重者可有明显的肝、肾、中枢神经系统损害，出现黄疸、肺出血、DIC、休克，甚至死亡。临床上根据患者受损的主要脏器不同主要分为肺出血型、流感伤寒型、黄疸出血型、低血压休克型、肾衰竭型等。部分患者退热后，发生眼血管膜炎、视网膜炎、脑膜炎、脑动脉炎等并发症或后发症，其发病机制与变态反应有关。

免疫性 主要依赖于特异性体液免疫。发病后1～2周，机体可产生特异性抗体。特异性抗体有调理、凝集、溶解钩端螺旋体及增强单核-巨噬细胞吞噬的作用，迅速清除体内的问号钩端螺旋体。特异性抗体似乎对肾脏中的钩端螺旋体无明显作用，故钩端螺旋体病患者恢复期1～2周、尤其是感染动物尿中可长期（数周至数年）带菌并排菌，其机制未明。感染后机体可获得对同一血清型钩端螺旋体的持久免疫力，但各血清群、型间无明显的交叉保护作用。

单核-巨噬细胞能吞噬并杀灭钩端螺旋体，中性粒细胞则否。特异性细胞免疫的抗钩端螺旋体感染作用一直存在争议，但一般认为有一定的保护作用。

四、微生物学检查法

标本采集　病原学检查时，发病7～10天取外周血，两周后取尿液。有脑膜刺激症状者取脑脊液。血清学检查时，可采取单份血清，但最好采集发病1周和发病3～4周双份血清。

病原学检查　常用暗视野显微镜检查法和镀银染色后普通光学显微镜检查法。

1. 直接镜检　将标本差速离心集菌后作暗视野显微镜检查，或Fontana镀银染色后镜检，也可用免疫荧光法或免疫酶染色法检查。

2. 分离与鉴定　将标本接种至Korthof或EMJH培养基中，28℃培养2周，再用暗视野显微镜检查有无钩端螺旋体生长。培养阳性者可进一步用显微镜凝集试验和凝集吸收试验进行血清群、型的鉴定。

3. 动物试验　适用于有杂菌污染的标本。将标本接种于幼龄豚鼠或金地鼠腹腔，一周后取心血镜检并作分离培养。若动物发病后死亡，解剖后可见皮下、肺部等处有出血点或出血斑，肝、脾、肾组织染色后镜检可见大量钩端螺旋体。

4. 分子生物学检测方法　PCR或标记DNA探针可用于检测标本中钩端螺旋体DNA片段。此等方法虽较分离培养法快速、敏感，但不能获得菌株。限制性核酸内切酶指纹图谱可用于钩端螺旋体鉴定、分型、变异等研究，脉冲场凝胶电泳聚类分析可用于流行病学调查。

血清学诊断　以MAT最为经典和常用。

1. MAT　用我国致病性钩端螺旋体参考标准株或当地常见的血清群、型的活钩端螺旋体作为抗原，与不同稀释度的患者血清混合后37℃孵育1～2小时，在暗视野显微镜下检查有无凝集现象。若血清中存在同型抗体，可见钩端螺旋体凝集成不规则的团块或蜘蛛状。以50%钩端螺旋体被凝集的最高血清稀释度作为效价判断终点。单份血清标本的凝集效价1∶300以上或双份血清标本凝集效价增长4倍以上有诊断意义。本试验特异性和敏感性均较高。

2. TR/patoc Ⅰ属特异性抗原凝集试验　双曲钩端螺旋体Patoc Ⅰ株经80℃加热10分钟后可作为属特异性抗原，能与所有感染不同血清群、型钩端螺旋体患者血清中的抗体发生凝集反应，常用的方法为玻片凝集试验（slide agglutination test，SAT）。所检测抗体主要是IgM，故本法可用于早期诊断。

3. 间接凝集试验　将钩端螺旋体可溶性抗原吸附于乳胶或活性炭微粒等载体上，然后检测血清标本中有无相应凝集抗体。单份血清标本乳胶凝集效价＞1∶2、炭粒凝集效价＞1∶8时可判为阳性，双份血清标本凝集效价呈4倍以上增长则更有诊断价值。

五、防治原则

要做好防鼠、灭鼠工作，加强对带菌家畜的管理，保护水源。疫区人群接种钩端螺旋体多价疫苗是预防和控制钩端螺旋体病流行的主要措施。夏季和早秋是钩端螺旋体病流行季节，应尽量避免或减少与疫水接触，接触疫水人群可口服多西环素进行紧急预防。钩端螺旋体疫苗有多价全菌死疫苗和多价外膜疫苗，前者虽有免疫保护作用，但副作用很大，后者由我国学者首创，其免疫效果好、不良反应小，有望替代全菌死疫苗。

钩端螺旋体病的治疗首选青霉素，至今尚未发现钩端螺旋体对青霉素有耐药性，青霉素过敏者可选用庆大霉素或多西环素。部分患者青霉素注射后出现寒战高热及低血压，有的甚至出现抽搐、休克、呼吸和心跳暂停，称之赫氏反应。赫氏反应可能与钩端螺旋体被青霉素杀灭后所释放的大量毒性物质有关。

第二节 密螺旋体属

密螺旋体属（*Treponema*）的螺旋体分为致病性和非致病性两大类。致病性密螺旋体主要有苍白密螺旋体（*T. pallidum*）和品他密螺旋体（*T. carateum*）两个种。苍白密螺旋体又分为3个亚种：苍白亚种（*subsp. pallidum*）、地方亚种（*subsp. endemicum*）和极细亚种（*subsp. pertenue*），分别引起梅毒、非性传播梅毒（又称地方性梅毒）和雅司病。

一、苍白密螺旋体

苍白密螺旋体苍白亚种俗称梅毒螺旋体，是引起人类梅毒的病原体。梅毒（syphilis）是人类性传播疾病（sexual transmitted disease，STD）中危害性较严重的一种。

1. 生物学性状

形态与染色　长6～15μm，宽约0.1～0.2μm，有8～14个致密而规则的螺旋，两端尖直，运动活泼（图17-3）。梅毒螺旋体基本结构由外至内分别为外膜、细胞壁、3～4根内鞭毛及细胞膜包绕的原生质体。内鞭毛赋予梅毒螺旋体的移行、曲伸、滚动等多种运动方式，革兰染色阴性，但不易着色，用Fontana镀银染色法染成棕褐色，常用暗视野显微镜直接观察悬滴标本中的梅毒螺旋体（图17-3）。

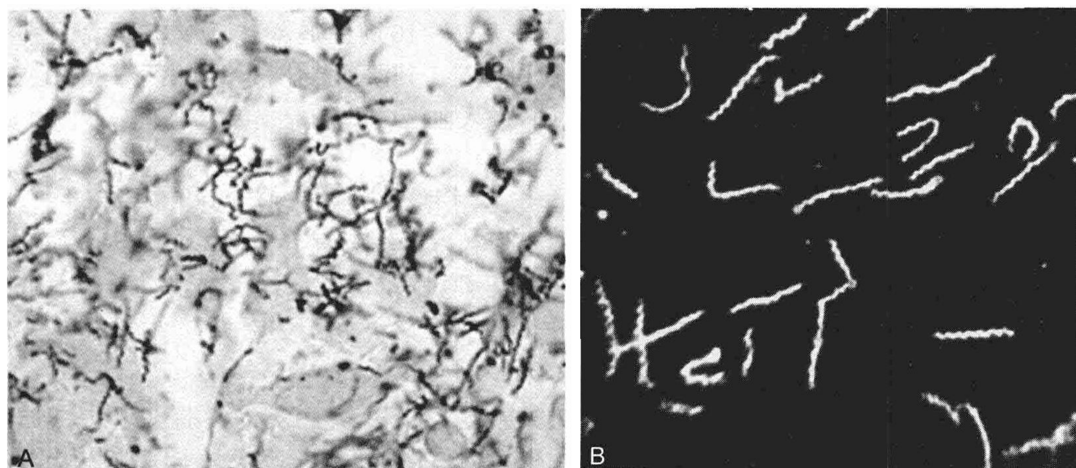


图17-3　兔睾丸组织（A）及细胞培养基中（B）的梅毒螺旋体
A. 镀银染色（光学显微镜，×1000）；B. 悬滴标本（暗视野显微镜，×1000）

培养特性　不能在无生命的人工培养基上生长繁殖。Nichols有毒株对人和家兔有致病性，接种家兔睾丸或眼前房能保持毒力且缓慢繁殖。若将其转种至含多种氨基酸的兔睾丸组织碎片中，在厌氧条件下虽能生长繁殖，但失去致病力，此种菌株称为Reiter株。Nichols株和Reiter株已广泛用作多种梅毒血清学的诊断抗原。采用棉尾兔（cotton tail rabbit）单层上皮细胞，在微需氧条件下（1.5%O_2、5%CO_2、93.5%N_2）33℃培养的梅毒螺旋体可生长繁殖并保持毒力。

抗原构造　主要有相对分子质量分别为15、17、34、44、47×10^3等外膜蛋白，其中47×10^3外膜蛋白（TpN47）含量最高且抗原性较强，其次为TpN15和TpN17。鞭毛蛋白主要由33×10^3、33.5×10^3核心蛋白亚单位和37×10^3鞘膜蛋白亚单位组成的聚合结构，其中37×10^3鞘膜蛋白亚单位含量高且抗原性强。

基因组　梅毒螺旋体Nichols株染色体基因组为一个1138011bp的环状DNA。

抵抗力　抵抗力极弱，对温度和干燥特别敏感。离体后干燥1～2小时或50℃加热5分钟即死亡。血液中的梅毒螺旋体4℃放置3天可死亡，故血库4℃冰箱储存3天以上的血液通常无传染梅毒的风险。对化学消毒剂敏感，1%～2%苯酚处理数分钟即死亡。对青霉素、四环素、红霉素或砷剂敏感。

2. 致病性

致病物质 梅毒螺旋体有很强侵袭力，但尚未证明具有内毒素和外毒素，其毒力因子和致病机制了解甚少。

（1）荚膜样物质：为菌体表面的黏多糖和唾液酸，可阻止抗体等大分子物质与菌体结合、抑制补体激活及补体溶菌作用、干扰单核–巨噬细胞吞噬作用，从而有利于梅毒螺旋体在宿主内存活和扩散。梅毒患者长出现的免疫抑制现象也被认为与荚膜样物质有关。

（2）黏附因子：一些梅毒螺旋体外膜蛋白是黏附因子，其受体主要是靶细胞胞外基质（ECM）中的纤维连接蛋白（FN）和层粘连蛋白（LN）。

（3）透明质酸酶：该酶能分解组织、细胞基质、血管基底膜中的透明质酸，有利于梅毒螺旋体的扩散，同时也可介导梅毒螺旋体黏附于宿主细胞表面。

与梅毒螺旋体结合的纤维连接蛋白有助于菌体免受宿主抗体、吞噬细胞的作用。梅毒发病过程中也有病理性体液和细胞免疫反应参与，如Ⅱ期梅毒患者血液中常出现梅毒螺旋体相关的免疫复合物、Ⅲ期梅毒患者出现树胶肿等。

所致疾病 梅毒螺旋体只感染人类引起梅毒，梅毒患者是唯一的传染源。梅毒一般分为后天性（获得性）和先天性两种，前者通过性接触传染，称为性病梅毒，后者从母体通过胎盘传染给胎儿。输入含梅毒螺旋体的血液或血制品，可引起输血后梅毒。

获得性梅毒临床上可分为三期，表现为发作、潜伏和再发作交替的现象。

（1）Ⅰ期梅毒：梅毒螺旋体经皮肤黏膜感染后2～10周，局部出现无痛性硬下疳（hard chancre），多见于外生殖器，也可见于肛门、直肠和口腔，其溃疡渗出液中有大量梅毒螺旋体，传染性极强。此期持续1～2个月，硬下疳常可自愈。进入血液中的梅毒螺旋体潜伏于体内，经2～3个月无症状的潜伏期后进入第Ⅱ期。

（2）Ⅱ期梅毒：全身皮肤及黏膜常出现梅毒疹，主要见于躯干以及四肢。全身淋巴结肿大，有时亦累及骨、关节、眼及中枢神经系统。在梅毒疹和淋巴结中有大量梅毒螺旋体。部分患者梅毒疹可反复出现数次。Ⅱ期梅毒患者未经治疗，3周～3个月后体征也可消退，多数患者发展成Ⅲ期梅毒。从出现硬性下疳至梅毒疹消失后1年的Ⅰ、Ⅱ期梅毒，又称为早期梅毒，传染性强，但组织破坏性较小。

（3）Ⅲ期梅毒：亦称晚期梅毒，多发生于初次感染2年后，也可见潜伏期长达10～15年的患者。此期病变波及全身组织和器官，呈现为慢性炎性损伤，常见损害为慢性肉芽肿，局部组织可因动脉内膜炎所引起的缺血而坏死，以神经梅毒和心血管梅毒最为常见，皮肤、肝、脾和骨骼可被累及，导致动脉瘤、脊髓痨或全身麻痹等。此期病灶内梅毒螺旋体少、传染性小，但破坏性大、病程长，疾病损害呈进展和消退交替出现，可危及生命。

先天性梅毒是梅毒孕妇患者的梅毒螺旋体通过胎盘进入胎儿体内引起的全身感染，可导致流产、早产或死胎，或新生儿出生后有皮肤病变、马鞍鼻、锯齿形牙、间质性角膜炎、先天性耳聋等特殊体征，俗称梅毒儿。

3. 免疫性 梅毒的免疫为传染性免疫或有菌性免疫，即梅毒螺旋体感染的个体对梅毒螺旋体的再感染有抵抗力，若梅毒螺旋体被清除，免疫力也随之消失。梅毒螺旋体侵入机体后，首先可被中性粒细胞和巨噬细胞吞噬，但不一定被杀死，只有特异性抗体在补体协同下，吞噬细胞可杀灭梅毒螺旋体。随后，感染的机体可产生特异性细胞免疫和体液免疫，其中以迟发型超敏反应为主的细胞免疫抗梅毒螺旋体感染作用较大。

在梅毒螺旋体感染的所有阶段，患者可产生梅毒螺旋体抗体和心磷脂抗体。梅毒螺旋体抗体可在补体存在的条件下，杀死或溶解梅毒螺旋体，同时对吞噬细胞有调理作用。心磷脂抗体又称反应素（reagin），能与生物组织中的脂质发生反应，无保护作用，仅用于梅毒血清学诊断。此外，梅毒患者体内常发现有多种自身抗体，如抗淋巴细胞抗体、类风湿因子、冷凝集素等，提示可能存在自

身免疫反应。

4. 微生物学检查法

病原学检查　最适标本是硬下疳渗出液，其次是梅毒疹渗出液或局部淋巴结抽出液，可用暗视野显微镜观察活动的梅毒螺旋体，也可用直接免疫荧光或ELISA法检查。组织切片标本可用镀银染色后镜检。

血清学试验　有非梅毒螺旋体抗原试验和梅毒螺旋体抗原试验两类。

（1）非螺旋体抗原试验：用正常牛心肌的心脂质（cardiolipin）作为抗原，测定患者血清中的反应素（抗脂质抗体）。国内较常用RPR（rapid plasma reagin）和TRUST（tolulized red unheated serum test）试验，前者以碳颗粒作为载体，结果呈黑色，后者以甲苯胺红为载体，结果呈红色，均用于梅毒初筛。VDRL（venereal disease reference laboratory）试验是神经性梅毒唯一的血清学诊断方法，也可用于梅毒初筛，但国内使用极少。因上述试验采用非特异性抗原，故一些非梅毒疾病如红斑性狼疮、类风湿关节炎、疟疾、麻风、麻疹等患者血清均可出现假阳性结果，必须结合临床资料进行判断和分析。

（2）螺旋体抗原试验：采用梅毒螺旋体Nichols株或Reiter株作为抗原，检测患者血清中特异性抗体，特异性较强，但操作繁琐。国内较常用的螺旋体抗原试验有梅毒螺旋体血凝试验（treponemal pallidum hemagglutination assay，TPHA）、梅毒螺旋体明胶凝集试验（treponemal pallidum particle agglutination assay，TPPA），其次尚有梅毒螺旋体抗体微量血凝试验（microhemagglutination assay for antibody to *Treponema pallidum*，MHA-TP）、荧光密螺旋体抗体吸收（fluorescent treponemal antibody-absorption，FTA-ABS）试验等。梅毒螺旋体制动（treponemal pallidum immobilizing，TPI）试验用于检测血清标本中是否存在能抑制梅毒螺旋体活动的特异性抗体，虽有较高特异性，但需使用大量的活梅毒螺旋体，现已少用。此外，近年来报道用单一或多种重组TpN蛋白为抗原建立的ELISA或梅毒螺旋体IgG抗体捕获ELISA、免疫印记迹法等，也有良好的检测效果。

由于新生儿先天性梅毒易受过继免疫的抗体干扰，部分患儿不产生特异性IgM，故其诊断较为困难。当脐血特异性抗体明显高于母体、患儿有较高水平特异性抗体或抗体效价持续上升时才有辅助临床诊断价值。

5. 防治原则　梅毒是性病，应加强性卫生教育和性卫生是减少梅毒发病率的有效措施。梅毒确诊后，应及早予以彻底治疗，现多采用青霉素治疗3个月至1年，以血清中抗体转阴为治愈指标，且治疗结束后需定期复查。目前尚无梅毒疫苗。

二、其他密螺旋体

1. 苍白密螺旋体地方亚种　是非性病梅毒、又称地方性梅毒的病原体。地方性梅毒主要发生于非洲，也可见于中东和东南亚等地区，主要通过污染的食具经黏膜传播。临床主要表现为有高度传染性的皮肤损害，晚期的内脏并发症少见。青霉素治疗有效。

2. 苍白螺旋体极细亚种　是雅司病的病原体，主要通过与患者皮肤病损部位的直接接触而感染。原发损害主要是发生于四肢的杨梅状丘疹，在皮肤损伤处常形成疤痕，骨破坏性病变常见，内脏和神经系统的并发症少见。青霉素治疗有效。

3. 品他密螺旋体　是品他病（pinta）的病原体，主要通过与患者病损皮肤的直接接触而感染。原发损害是皮肤出现小的瘙痒性丘疹，遍及面、颈、胸、腹和四肢，继而扩大、融合、表面脱屑，数月后丘疹变得扁平，色素加深。在感染后1～3年，皮损部位色素减退，甚至消失呈白瓷色斑，最后皮肤结痂、变形。

第三节 疏螺旋体属

疏螺旋体属（*Borrelia*）螺旋体有3～10个稀疏且不规则的螺旋，呈波状。对人有致病性的主要有伯氏疏螺旋体（*B. burgdorferi*）和回归热疏螺旋体（*B. recurrentis*），分别引起莱姆病和回归热。

一、伯氏疏螺旋体

伯氏疏螺旋体（*B. burgdorferi*）是莱姆病（Lyme disease）的主要病原体。莱姆病最初发现于1977年在美国康涅狄格州的莱姆镇，5年后由Burgdorfer从硬蜱及患者体内分离出伯氏疏螺旋体，并证实为莱姆病的病原体。莱姆病病原体存在着异质性，其分类也未统一，目前仍以伯氏疏螺旋体作为莱姆病病原体的统称。莱姆病以蜱为媒介进行传播，人和多种动物均可感染。目前我国已有十余个省和自治区证实有莱姆病存在。

1. 生物学性状

形态与染色　长10～40μm，宽0.1～0.3μm，两端稍尖（图17-4），有2～100根内鞭毛。伯氏疏螺旋体运动活泼，有扭转、翻滚、抖动等多种运动方式。革兰染色阴性，但不易着色。镀银染色、Giemsa或Wright染色效果较好。

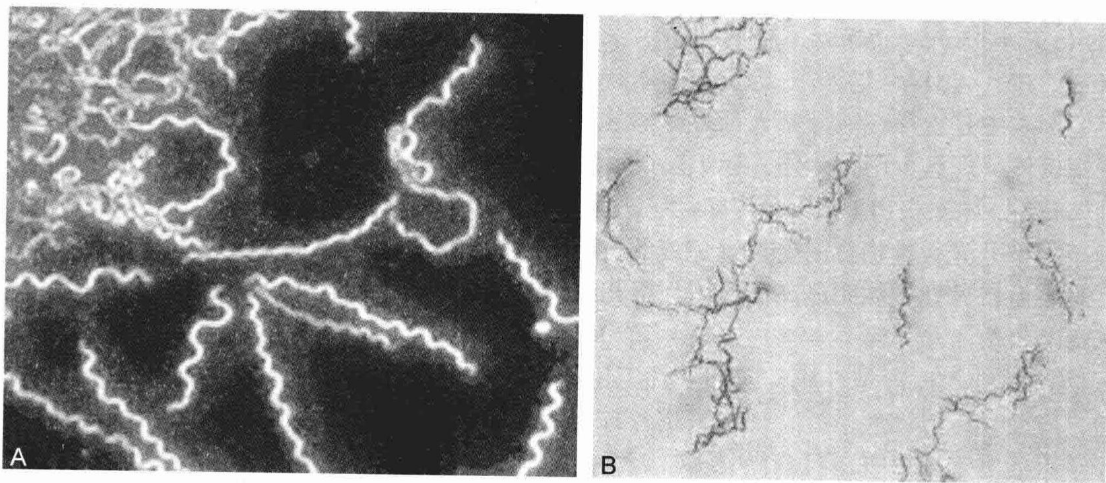


图17-4　荧光抗体（A）和镀银（B）染色的伯氏疏螺旋体
A. 荧光显微镜，×3000；B. 光学显微镜，×1000

培养特性　营养要求高，培养基需含有长链饱和及不饱和脂肪酸、葡萄糖、氨基酸和牛血清白蛋白等。微需氧或需氧，5%～10%CO_2促进生长。适宜培养温度为35℃。生长缓慢，在液体培养基中分裂繁殖一代的时间约为18小时，故通常需培养2～3周。伯氏疏螺旋体在液体培养基中易相互缠绕成团，在1%软琼脂固体培养基表面可形成边缘整齐、直径0.40～0.45μm的菌落。

抗原构造和分类　伯氏疏螺旋体有多种主要表面蛋白抗原，包括外膜脂蛋白和外膜蛋白OspA～F。表面蛋白A（outer superficial protein A，OspA）和表面蛋白B（OspB）为伯氏疏螺旋体主要表面抗原，有种特异性，其抗体有免疫保护作用。近年报道外表蛋白C（OspC）也有一定的免疫保护性。41×10^3鞭毛蛋白是优势抗原，可诱导体液和细胞免疫。外膜脂蛋白和热休克蛋白（heat shock protein，HSP）无种特异性。

莱姆病病原体存在异质性，其分类尚未统一，目前仍以伯氏疏螺旋体作为莱姆病病原体的统称。用DNA同源性分析世界各地分离出的莱姆病菌株，发现引起莱姆病的疏螺旋体至少有3种：①伯氏疏螺旋体，主要分布于美国和欧洲；②伽氏疏螺旋体（*B. garinii*），主要分布于欧洲和日本；③埃氏疏螺旋体（*B. afelii*），主要分布于欧洲和日本。美国分离的伯氏疏螺旋体有OspA，欧

洲分离的伯氏疏螺旋体OspA少见，我国分离的伯氏疏螺旋体与欧洲分离株较为接近。

基因组 伯氏疏螺旋体B31株染色体基因组为一个910724bp的环状DNA。

抵抗力 抵抗力弱。60℃加热1～3分钟即死亡，0.2%甲酚皂或1%苯酚处理5～10分钟即被杀灭。对青霉素、头孢菌素、红霉素敏感。

2. 流行环节 莱姆病是自然疫源性传染病。储存宿主多为野生和驯养的哺乳动物，其中以鼠和鹿较为重要。主要传播媒介是硬蜱，已确定的有4种：美国的丹敏硬蜱、太平洋硬蜱，欧洲的蓖子硬蜱和亚洲的全沟硬蜱。伯氏疏螺旋体可在蜱的中肠生长繁殖，叮咬宿主时，通过肠内容物反流、唾液或粪便而使宿主感染。我国莱姆病的高发地区主要在东北和内蒙古林区。莱姆病有明显的季节性，初发于4月末，6月份达高峰，8月份以后仅见散在病例。

3. 致病性

致病物质 伯氏疏螺旋体的致病机制迄今尚无定论，其致病可能是某些致病物质以及病理性免疫反应等多因素综合作用的结果。

（1）侵袭力：伯氏疏螺旋体能黏附、侵入成纤维细胞及人脐静脉内皮细胞，并在细胞浆中生存。此黏附可被多价抗血清或外膜蛋白OspB的单克隆抗体所抑制，表明伯氏疏螺旋体表面存在黏附和侵袭因子。伯氏疏螺旋体黏附的受体是靶细胞胞外基质（ECM）中的纤维连接蛋白（FN）和核心蛋白多糖（decorin，DEN）。

（2）抗吞噬作用：伯氏疏螺旋体的临床分离株对小鼠毒力较强，在人工培养基中传代多次后毒力明显下降，易被小鼠吞噬细胞所吞噬。与此同时，外膜蛋白OspA亦逐渐消失，故推测OspA与抗吞噬作用有关。

（3）内毒素样物质（endotoxin-like substance，ELS）：伯氏疏螺旋体细胞壁中的LPS具有类似细菌内毒素的生物学活性。

所致疾病 莱姆病是一种慢性全身传染性疾病，病程可分为三期：早期局部性感染、早期播散性感染和晚期持续性感染。

早期局部性感染表现为疫蜱叮咬后经过3～30天的潜伏期，在叮咬部位出现一个或数个慢性移行性红斑（erythema chronicum migrans，ECM），伴有头痛、发热、肌肉和关节疼痛、局部淋巴结肿大等症状。ECM初为红色斑疹或丘疹，继而扩大为圆形皮损，直径5～50cm，边缘鲜红，中央呈退行性变，多个ECM重叠在一起可形成枪靶形。早期播散性感染多表现为继发性红斑、面神经麻痹、脑膜炎等。未经治疗的莱姆病患者约80%可发展至晚期，主要表现为慢性关节炎、周围神经炎和慢性萎缩性肌皮炎。

4. 免疫性 伯氏疏螺旋体感染后可产生特异性抗体，但抗体应答迟缓。抗伯氏疏螺旋体感染主要依赖于特异性体液免疫，如特异性抗体能增强吞噬细胞吞噬伯氏疏螺旋体的作用，有助于清除伯氏疏螺旋体。特异性细胞免疫的保护作用尚有争议。

5. 微生物学检查法

标本采集 伯氏疏螺旋体在莱姆病的整个病程中数量较少，难以分离培养，主要取患者血清标本进行血清学检查。有时也可采集皮损、血液、脑脊液、关节液、尿等标本用分子生物学方法检测。

病原学检查 主要采用PCR检测标本中伯氏疏螺旋体DNA片段。

血清学检查 使用最广泛的是免疫荧光法和ELISA。ELISA方法简便，特异性和敏感性较高，为多数实验室所采用。特异性IgM抗体在ECM出现后2～4周形成，6～8周达峰值，4～6个月后恢复正常。IgG抗体出现较迟，其峰值出现于发病后4～6个月，并持续至病程的晚期。鞭毛蛋白抗体主要是IgM，Osp抗体主要是IgG。若脑脊液中检出特异性抗体，表示中枢神经系统已被累及。ELISA阳性时，需用免疫印迹技术分析其特异性，有助于排除ELISA的假阳性反应。由于伯氏疏螺旋体与苍白密螺旋体等有共同抗原、莱姆病的病原体多样化、不同菌株携带靶抗原的差异及其变异，ELISA和免疫印迹的结果仍需结合临床资料判定。

6. 防治原则 疫区工作人员要加强个人保护，避免硬蜱叮咬。根据患者不同的临床表现及病程采用不同的抗生素及给药方式。早期莱姆病用多西环素、羟氨苄西林或红霉素，口服即可。晚期莱姆病时存在多种深部组织损害，一般用青霉素联合头孢三嗪等静脉滴注。目前尚无疫苗。

二、回归热疏螺旋体

回归热（relapsing fever）是一种以急起急退的高热、周期性反复发作为临床特征的急性传染病。多种疏螺旋体均可引起回归热。根据回归热病原体及传播媒介昆虫的不同，可分为两类：虱传回归热或称流行性回归热，其病原体为回归热疏螺旋体（*B. recurrentis*），传播媒介是虱；蜱传回归热或称地方性回归热，其病原体为杜通疏螺旋体（*B. duttonii*）、赫姆斯疏螺旋体（*B. hermsii*）等，主要通过软蜱传播。蜱传回归热临床表现与虱传回归热相似，但症状较轻，病程较短。我国流行的回归热主要是虱传型。

1. 生物学性状

形态与染色 长10～30μm，宽约0.3μm，有3～10个不规则的螺旋，运动活泼，革兰染色阴性，Giemsa染色呈紫红色，Wright染色呈棕红色（图17-5）。

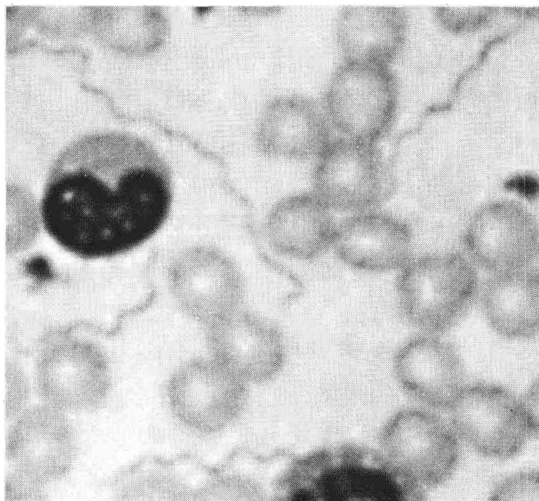


图17-5 回归热疏螺旋体（光学显微镜，×1 000）

培养特性 微需氧，最适生长温度为28～30℃，在含血液、血清或动物蛋白的液体培养基上能生长，但分裂繁殖一代约需18小时，在体外传数代后，其致病性丧失。

抗原结构 含有类属抗原和特异性抗原，但抗原性极易变异。在病程中可以从同一个患者体内分离出几种抗原结构不同的变异株。

2. 流行环节 回归热疏螺旋体储存宿主是啮齿类动物，虱或软蜱叮咬动物宿主后被感染，其体腔、唾液、粪便中均可含有回归热疏螺旋体。虱或软蜱叮咬人后，回归热疏螺旋体经伤口直接进入体内引起疾病。

3. 致病性 3～10天潜伏期后患者出现高热，持续3～5天退热，约一周后又出现高热，如此反复发作达3～10次。急起急退的反复周期性高热、全身肌肉酸痛、肝脾肿大为回归热的临床特征，重症患者可出现黄疸和出血。

4. 免疫性 感染后机体可产生特异性抗体，抗体在补体协同下可裂解回归热疏螺旋体。但回归热疏螺旋体外膜蛋白极易发生变异，所形成的突变株可以逃避抗体的攻击，突变株繁殖到一定数量时则引起第二次高热，如此反复多次，直至机体产生的多种特异性抗体能对各种变异株发挥作用，回归热螺旋方被清除。感染后免疫力维持时间短暂。

5. 微生物学检查法 采集发热期的外周血标本，直接涂片后进行Giemsa染色，光镜下可见比红细胞长数倍、并且有疏松螺旋的螺旋体，但退热期血液中常无螺旋体。

6. 防治原则 进入疫区人员应避免虱和蜱的叮咬。青霉素、四环素、红霉素治疗有效。目前尚无疫苗产品。

三、奋森疏螺旋体

奋森疏螺旋体（*B. vincentii*）的形态与回归热疏螺旋体类似。正常情况下，奋森疏螺旋体与梭形梭杆菌（*Fusobacterium fusiforme*）共同寄居于人类口腔牙龈部位，当机体免疫功能下降，这两种菌大量繁殖，协同引起奋森咽峡炎、牙龈炎、口腔坏疽等。微生物学检查可采取局部病变材料直

接涂片，革兰染色镜检可观察到疏螺旋体和梭状杆菌。

展 望

医学及其相关学科的飞速发展，使致病性螺旋体及螺旋体病的研究有了重大的进步。尤其是分子生物学技术的广泛应用，对螺旋体分子致病机制及防治等方面产生了巨大的影响。由我国科学家首先完成的钩端螺旋体黄疸出血群赖型赖株全基因组序列测定，以及各国科学家完成的梅毒螺旋体、伯氏疏螺旋体等多种致病性螺旋体基因组测序工作，为深入研究螺旋体致病机制奠定了坚实的基础，也使研究重点进入蛋白质组学的新阶段，同时将影响相关疾病预防和控制策略并推进临床诊治新方法和新药研制进程。

近年来，病原微生物与宿主细胞相互作用在感染的发生、发展、转归中作用的研究，已成为国际上医学微生物领域的研究热点和前沿，使人们对病原微生物感染本质及其机制的认识达到了前所未有的深度和广度，并由此出现了称之为细胞微生物学（Cellular Microbiology）的医学微生物学新分支。绝大多数致病性螺旋体是人兽共患微生物，但这些螺旋体感染动物时往往呈轻症状或无症状过程，甚至终身带菌排菌或成为传播媒介，如钩端螺旋体病和莱姆病等。因此，采用细胞微生物学概念和技术，有可能揭示致病性螺旋体对不同物种致病性差异的原因，同时也将对疫源地控制产生重大影响。

阐明病原微生物的致病机制是医学微生物学的核心任务，但目前对几乎所有致病性螺旋体的致病物质及其致病机制了解甚少。业已肯定的一些致病物质，往往其生物学功能无法用于完全解释螺旋体感染相关疾病的临床症状和病理改变。近年来，应用分子生物学、尤其是细胞生物学方法研究致病性螺旋体毒力因子及致病机制取得了显著进展，超越了传统毒力因子的概念。例如，钩端螺旋体感染人或小鼠巨噬细胞后结局的明显差异、基于内鞭毛的螺旋体动力在致病过程中有重要作用、溶血素有实际意义的致病性、微生物免疫球蛋白样蛋白超家族的黏附功能、经线粒体相关非caspase信号传导通路诱导宿主细胞凋亡、细胞胞外基质分子层粘连蛋白和纤维连接蛋白是致病性螺旋体黏附的主要受体分子等。然而，深入阐明致病性螺旋体致病机制仍然任重而道远。

致病性螺旋体实验室诊断和疫苗仍存在不少问题。例如，至今仍然缺乏较为理想的梅毒及莱姆病的早期、快速和特异的实验室诊断方法。梅毒、莱姆病、回归热至今尚无实际应用的疫苗，现行使用的多价全菌钩端螺旋体死疫苗副作用很大，也无法预防疫苗中未包含的钩端螺旋体血清群、型引起的感染。因此，敏感特异的实验室诊断方法、安全有效的新型疫苗也将是今后致病性螺旋体研究的重点之一。

（严 杰）

第十八章 立克次体

立克次体（Rickettsiae）是一类严格细胞内寄生的原核细胞型微生物，以节肢动物为传播媒介，可引起斑疹伤寒、斑点热、恙虫病等传染病。立克次体由美国青年医师Howard Taylor Ricketts于1906年首先发现，为纪念他在研究斑疹伤寒时不幸感染而献身，故以他的名字命名这一类微生物。大多数立克次体病为人兽共患的自然疫源性疾病，动物感染后并不发病。由于立克次体病是以节肢动物为传播媒介，所以节肢动物的栖息活动和季节的消长特性，决定了各种立克次体病的流行也有一定的地区性和季节性。我国主要的立克次体病有地方性斑疹伤寒、斑点热、恙虫病、埃立克体病，以及近年来出现的人粒细胞无形体病等。贝纳柯克斯体和巴通体虽然在分类上已脱离立克次体目，但习惯上仍在本章中阐述。

立克次体目（Rickettsiales）下分立克次体和无形体2个科。对人类致病的立克次体主要有立克次体科的2个属和无形体科的3个属，即立克次体属（Rickettsia）、东方体属（Orientia）、埃立克体属（Ehrlichia）、无形体属（Anaplasma）和新立克次体属（Neorickettsia）。常见致病性立克次体的分类、所致疾病、流行环节和地理分布见表18-1。

Rickettsiae are small, Gram negative bacilli adapted to strict intracellular microbes, and transmitted by arthropod vectors. They are primary parasites of arthropods such as lice, fleas, ticks, or mites, which serves as both vector and reservoir. In vertebrates, including humans, they infect the vascular endothelium and reticuloendothelial cells. Rickettsia is named after Howard Taylor Ricketts who discovered the causative agent of Rocky Mountain Spotted Fever, a spotted fever rickettsial organism, in 1906 and died of typhus fever contracted during his research in 1910.

Rickettsiales currently comprises two families, *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae*. Pathogenic species to human mostly belong to five genera: Rickettsia, Orientia, Ehrlichia, Anaplasma and Neorickettsia.

Most of these organisms are maintained in animal (*e.g.*, rodent and domestic animals) and arthropod reservoirs and, are transmitted by blood-sucking arthropod vectors (*e.g.*, ticks, mites, lice or fleas). Humans are accidentally infected with these organisms. There are at least four infection groups in rickettsial diseases: typhus group (epidemic typhus and endemic typhus), spotted fever group (Rocky Mountain spotted fever, Rickettsialpox, Queensland tick typhus, Siberian tick typhus and Mediterranean spotted fever), scrub typhus, and ehrlichiosis (human monocytic ehrlichiosis, human granulocytic anaplasmosis, and Sennetsu fever). The former three groups of diseases have been found in China for more than 50 years and the distribution is very wide, but ehrlichiosis have been reported since 2000 A. D.

The main pathogenic materials of rickettsiae are lipopolysaccharide. Although the clinical presentation varies by rickettsial species, some common symptoms that typically develop within 1 ~ 2 weeks of exposure include fever, headache, and malaise. Most tick-transmitted rickettsiosis are accompanied by a maculopapular, vesicular or petechial rash, and/or an eschar at the site of the tick bite. While many rickettsial diseases cause mild or moderate illness, epidemic typhus and RMSF can be quite severe and may be fatal in 20% ~ 60% of untreated cases.

Most symptoms associated with rickettsial infections are very nonspecific and require further tests to make an accurate diagnosis. If clinical symptoms and the epidemiologic history are compatible with rickettsial infections, the specific PCR test, specific immunohistological detection, and isolation of a rickettsial agent by culture during the acute stage of illness and before antibiotic treatment should be utilized. The diagnosis can be confirmed at a later time by obtaining acute- and convalescent-phase serum from the patient by serological tests.

Human rickettsiosis may be prevented by general measures, such as control of the vector and reservoir hosts, although antibiotics (e.g. doxycycline, tetracycline, and chloramphenicol) are effective for treating rickettsial diseases. Immunization is useful in special situations and inactivated or attenuated vaccines against some rickettsiosis have been developed.

表18-1 常见立克次体的分类、所致疾病、流行环节和地理分布

属	群	种	所致疾病	传播媒介	储存宿主	地理分布
立克次体属	斑疹伤寒群	普氏立克次体（*R. prowazekii*）	流行性斑疹伤寒	人虱	人	世界各地
		莫氏立克次体或称斑疹伤寒立克次体（*R. mooseri* or *R. typhi*）	地方性斑疹伤寒	鼠蚤	家鼠、其他啮齿动物	世界各地
	斑点热群	立氏立克次体（*R. rickettsii*）	落基山斑点热	蜱	啮齿动物、犬	北美、南美
		西伯利亚立克次体（*R. sibirica*）	北亚蜱传斑点热	蜱	啮齿动物	东北亚、中国
		黑龙江立克次体（*R. heilongjiangensis*）	远东斑点热	蜱	啮齿动物	东北亚、中国
		康氏立克次体（*R. conorii*）	纽扣热、肯尼亚和印度蜱传斑点热	蜱	啮齿动物	地中海地区、非洲、南亚
		澳大利亚立克次体（*R. australis*）	昆士兰热	蜱	不详	澳大利亚
		小蛛立克次体（*R. akari*）	立克次体痘	螨	家鼠，其他啮齿动物	北美、东北亚、南非
东方体属		恙虫病立克次体（*R. tsutsugamushi*）	恙虫病	螨	啮齿动物	亚洲、大洋洲
无形体属		嗜吞噬细胞无形体（*A. phagocytophilum*）	人粒细胞无形体病	蜱	啮齿动物、鹿、牛、羊	美洲、欧洲、亚洲
埃立克体属		查非埃立克体（*E. chaffeensis*）	人单核细胞埃立克体病	蜱	啮齿动物、犬、鹿	美洲、欧洲、亚洲
新立克次体属		腺热新立克体（*N. sennetsu*）	腺热	吸虫	鱼类	日本、马来西亚

立克次体具有的共同特性是：①专性在细胞内寄生；②有革兰阴性菌细胞壁，形态多样，主要为球杆状，大小介于细菌和病毒之间；③含有DNA和RNA两类核酸；④以二分裂为繁殖方式；⑤以节肢动物为传播媒介，寄生在吸血节肢动物体内，使其成为寄生宿主，或为储存宿主；⑥多引起人兽共患性疾病，以发热、头痛及出疹为主要临床表现；⑦对广谱抗生素敏感。

基本生物学性状

1. 形态与染色　立克次体菌体呈多形性，球杆状或杆状，大小为宽0.3～0.6μm，长0.8～2.0μm。

革兰染色阴性,但不易着色。常用Gimenza或Giemsa法染色,前者立克次体被染成红色,染色效果好,后者染成紫红色。

2. 结构与组成　立克次体菌体最外层是由多糖组成的黏液层，在黏液层和细胞壁之间有脂多糖或多糖组成的微荚膜。其内有细胞壁和细胞膜，其结构与革兰阴性菌相似。上述表层结构与立克次体黏附在宿主细胞及抗吞噬有关。细胞壁含有外膜、肽聚糖和蛋白脂类多糖，其脂类含量比一般细菌更高。细胞膜为脂质双分子层,含大量磷脂。细胞质内有核糖体（由30S和50S两个亚单位组成），核质内有双链DNA，但无核仁和核膜。

3. 培养特性　立克次体在活细胞内生长，以二分裂方式繁殖，繁殖一代需约6～10小时。立克次体培养常用动物接种、鸡胚接种和细胞培养。常用的组织培养系统有鸡胚成纤维细胞、L929细胞和Vero单层细胞，孵育最适温度为37℃。

4. 抗原结构　立克次体属有两种抗原，即群特异性抗原和种特异性抗原，前者与细胞壁表层的脂多糖成分有关，系可溶性抗原，耐热；后者与外膜蛋白有关，不耐热。

立克次体科病原体与变形杆菌某些菌株有共同的抗原成分（表18-2）。临床检验中常用这类变形杆菌代替相应的立克次体抗原进行非特异性凝集反应，此试验被称为外斐反应（Weil-Felix reaction），用于检测患者血清中有无相应抗体，供立克次体病的辅助诊断。

表18-2　主要立克次体与变形杆菌菌株抗原的交叉

立克次体	变形杆菌菌株		
	OX19	OX2	OXK
普氏立克次体	+++	+	-
莫氏立克次体	+++	+	-
恙虫病立克次体	-	-	+++

5. 抵抗力　立克次体抵抗力均较弱。56℃数分钟即被灭活，0.5%苯酚和0.5%甲酚皂、75%乙醇数分钟即可被杀灭。离开宿主细胞后迅速死亡，但－20℃或冷冻干燥可保存约半年，媒介节肢动物粪便中可存活一年以上。对氯霉素和四环素等抗生素敏感，磺胺类药物有促进立克次体生长繁殖作用。

致病性与免疫性

感染途径　人类感染立克次体主要通过吸血节肢动物如人虱、鼠蚤、蜱或螨的叮咬而传播。由立克次体属病原体引起的疾病统称为立克次体病。不同的立克次体所引起的疾病各不相同，主要包括流行性或地方性斑疹伤寒、斑点热等。

致病物质　立克次体的致病物质主要有内毒素和磷脂酶A两类。其内毒素具有与细菌内毒素相似的多种生物学活性，如致热原性，损伤内皮细胞，致微循环障碍和中毒性休克等。磷脂酶A能溶解宿主细胞膜或细胞内吞噬体膜，以助吞噬泡内的立克次体释入胞质中增殖。此外立克次体表面黏液层及微荚膜结构有利于黏附到宿主细胞表面和抗吞噬作用，增强其对易感细胞的侵袭力。

致病机制　立克次体侵入机体后，先在局部淋巴组织或小血管内皮细胞中增殖，导致血管内皮肿胀、炎细胞浸润、微循环障碍及血栓形成，并进入血流产生初次菌血症。随之扩散至全身脏器小血管内皮细胞中繁殖后，再次释放入血导致第二次菌血症，出现典型的临床表现，即发热、皮疹及脏器功能紊乱。其早期病变主要由内毒素引起，晚期病变主要是免疫病理所致。严重者伴有全身实质性脏器的血管周围广泛性病变，常见于皮肤、心脏、肺和脑。宿主可因心、肾衰竭而死亡。

免疫性　立克次体是严格细胞内寄生的病原体，感染后的机体虽可产生针对立克次体及其毒素的群和种特异性抗体，但体内抗感染免疫仍以细胞免疫为主，体液免疫为辅。病后可获得持久的特异性免疫力。

第一节 普氏立克次体

普氏立克次体（R. prowazekii）是流行性斑疹伤寒（Epidemic typhus，又称虱传斑疹伤寒）的病原体，以研究斑疹伤寒而献身的捷克科学家Von Prowazek的姓氏命名。

一、生物学性状

形态和染色 菌体大小为宽0.3～0.8μm，长0.6～2.0μm，呈多形态性，以短杆形为主（图18-1）。Giemsa法染色呈紫红色，Gimenza法染色呈红色，呈单个或短链状散布在感染细胞胞质内或细胞外。

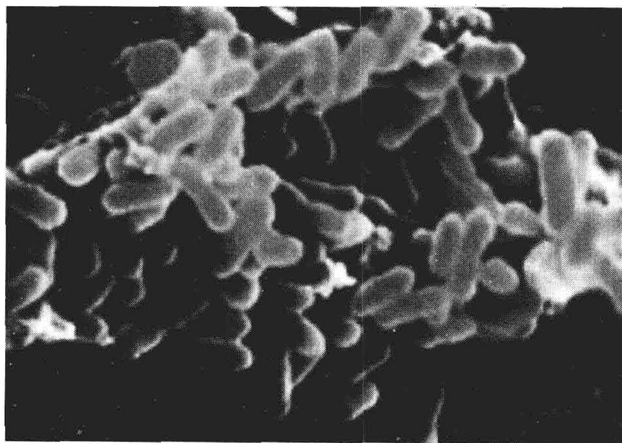


图18-1 普氏立克次体（扫描电镜，×5500）

培养特性 应用鸡胚纤维母细胞、Vero细胞或Hela细胞等进行分离和培养，最适温度为37℃。繁殖一代需要6～10小时。鸡胚卵黄囊接种常用于立克次体传代和繁殖，动物接种常选用雄性豚鼠或小鼠。

抗原构造 除群特异性和种特异性两种抗原及与普通变形杆菌OX19和OX2株共有的耐热多糖抗原外，尚有已报道的种特异性抗原之一是血清型蛋白抗原（serotype protein antigen，SPA），是普氏立克次体重要的保护性抗原。

抵抗力 对热敏感。0.5%苯酚和0.5%甲酚皂5分钟可灭活。耐低温和干燥，在干虱粪中能保持活性两个月左右。对四环素类和氯霉素类抗生素敏感。磺胺可刺激其增殖。

二、流行环节

流行性斑疹伤寒呈世界性分布。患者是唯一传染源和储存宿主，体虱是主要传播媒介，传播方式为虱-人-虱。虱叮咬患者后，立克次体进入虱肠上皮细胞内繁殖。当受染虱再去叮咬健康人时，立克次体随粪便排泄于皮肤上，进而可从搔抓的皮肤破损处侵入体内。含普氏立克次体的虱粪也可经空气侵入呼吸道或眼结膜导致感染。含菌体的干虱粪偶可随气溶胶经呼吸道或眼结膜导致感染。

三、致病性与免疫性

流行性斑疹伤寒多见成年人感染，老年患者有较高死亡率。人感染普氏立克次体后，经两周左右的潜伏期骤然发病，主要症状为持续性高热、剧烈头痛和周身疼痛、淤点样皮疹（或斑丘疹），有的伴有神经系统、心血管系统或其他脏器损害。

机体感染后产生的群和种特异性抗体，有调理巨噬细胞的吞噬及中和毒性的作用。由细胞免疫产生的细胞因子，有激活、增强巨噬细胞杀灭细胞内立克次体的作用。病后可获得较强的免疫力。

四、微生物学检查法

由于立克次体易引起实验室内的人体感染，故必须严格遵守实验室操作规程，注意防止感染事故的发生。

1. 标本的采集 一般在发病初期、急性期或应用抗生素前采标本，否则很难获得阳性分离结果。主要采集患者的血液以供病原体分离或作血清学试验。

2. 分离培养 可将检材（血液、血块或其他组织悬液）接种至雄性豚鼠腹腔。若接种后豚鼠体温 > 40℃，同时有阴囊红肿，表示有立克次体感染，应进一步取动物感染组织制备悬液接种鸡胚或细胞，用特异性抗体做免疫荧光试验鉴定感染鸡胚或细胞中的立克次体。

3. 血清学试验 外斐反应如滴度≥1∶160或随病程延长而血清滴度增长4倍或4倍以上，为阳性反应。但同时需要结合流行病学史和临床症状进行确诊。此外，还可以采用ELISA法或免疫荧光法检测血清中特异抗体。

4. 核酸检测 包括常规PCR、复合式PCR、巢式PCR及实时定量PCR技术，可用于立克次体快速诊断。

五、防治原则

控制和消灭媒介昆虫-虱、加强个人自身防护是有效预防流行性斑疹伤寒的主要措施。流行区人群可接种灭活普氏立克次体全菌疫苗，免疫力持续约一年。四环素类抗生素（如多西环素）、氯霉素对此病均有效。

第二节 莫氏立克次体

莫氏立克次体（R. mooseri）或称斑疹伤寒立克次体（R. typhi）是地方性斑疹伤寒（Endemic typhus，亦称鼠型斑疹伤寒）的病原体。Mooser等于1931年从地方性斑疹伤寒墨西哥流行区的鼠脑和美国流行区的鼠虱中分离到该病原体。我国学者于1932年在鼠蚤的肠上皮细胞内发现该病原体，从病原学上证实我国鼠型斑疹伤寒的存在。

一、生物学性状

莫氏立克次体形态和染色、培养特性、抗原构造、抵抗力等均与普氏立克次体相似或相同。斑疹伤寒立克次体Giemsa染色呈紫红色，可出现两极浓染，其SPA与普氏立克次体有明显抗原性差异。

二、流行环节

地方性斑疹伤寒呈世界性分布，在我国分布广泛。莫氏立克次体的传播方式与普氏立克次体明显不同，其主要的储存宿主是家鼠，传播媒介主要是鼠蚤，以鼠-蚤-鼠在自然界循环。莫氏立克次体在鼠蚤肠上皮细胞内大量繁殖，并随粪便排出。鼠蚤叮吮人血时，蚤粪污染人的皮肤破损处，其中的莫氏立克次体从伤口进入人体。在干燥蚤粪中的莫氏立克次体也可经呼吸道或眼结膜进入人体而致病。

三、致病性与免疫性

莫氏立克次体致病物质与普氏立克次体相似，但尚未发现有多糖黏液和微荚膜。人感染后所引起的地方性斑疹伤寒，其发病过程、临床症状及病理改变均与流行性斑疹伤寒相似，但发病缓慢、病情较轻，病程较短、皮疹少有呈出血性，很少累及中枢神经系统、心肌等，病死率低于1%。病愈后能获得牢固的免疫力，与普氏立克次体的感染有交叉免疫力。

四、微生物学检查法

地方性斑疹伤寒感染者的标本采集与处理、病原学和血清学检查等与流行性斑疹伤寒相似。可采集感染者血或组织、鼠蚤进行分离培养或动物接种，以确定传染源。与普氏立克次体感染动物相比，莫氏立克次体接种的雄性豚鼠反应较重，有明显的阴囊红肿和鞘膜反应（Neill-Mooser reaction）。

也可应用莫氏立克次体特异性抗原或抗体或特异性引物，进行血清学或核酸检测，以与普氏立克次体感染相区别。

五、防治原则

以改善居住条件，讲究个人卫生，灭鼠、灭蚤综合性防治原则。治疗原则同流行性斑疹伤寒，首选多西环素。

第三节　恙虫病东方体

恙虫病东方体（Orientia tsutsugamushi）是恙虫病的病原体。1927年日本学者绪方规雄等用恙虫病患者血液注射于家兔睾丸内，经5～6次传代后分离到病原体，1931年正式定名为恙虫病立克次体。目前，新的细菌分类已将该病原体从立克次体属分出，并新建东方体属，将其命名恙虫病东方体。

一、生物学性状

形态和染色　恙虫病东方体Giemsa染色呈紫红色，呈多形性，多为短杆或球杆状，成对排列，大小为宽0.2～0.6μm，长0.5～1.5μm。恙虫病东方体在感染动物组织或渗出液中，多分布于单核细胞胞质内近核旁。

培养特性　可采用鼠（小鼠、豚鼠、地鼠等）接种和鸡胚卵黄囊接种。常用的原代细胞有地鼠肾细胞、睾丸细胞等，传代细胞有Vero、Hela等。

抗原构造　恙虫病东方体的细胞壁结构及抗原成分与其他立克次体不同，①无黏液层、无微荚膜、无肽聚糖和脂多糖；②细胞外层明显厚于细胞内层；③16S rRNA分析发现其在系统发育树中远离其他立克次体属成员，故将其从立克次体属中移出和新立东方体属；④有耐热多糖抗原和特异性抗原，与普通变形杆菌OXK株有共同的多糖抗原。

抵抗力　为致病性立克次体中最弱的。56℃ 10分钟即被杀灭，37℃ 2～3小时其活力大为下降。对一般消毒剂极为敏感。低温可长期保存，-20℃能存活5周。

二、流行环节

恙虫病主要流行于东南亚、西南太平洋岛屿、日本和我国的东南与西南地区，故被称为“东方立克次体”。近年来，国内疫区已扩大到长江以北。恙虫病是一种自然疫源性疾病，主要流行于啮齿动物。野鼠和家鼠感染恙虫病东方体不发病，但体内长期保留该病原体，为恙虫病的主要传染源。恙虫病东方体寄居在恙螨体内，可经卵传代，并借助于恙螨幼虫的叮咬在鼠间传播，故恙螨是恙虫病东方体的传播媒介、储存宿主。

三、致病性与免疫性

目前恙虫病东方体的致病机制尚不清楚，其致病物质可能为菌体死亡后释放出内毒素样物质。

所致疾病　引起人恙虫病。被携带恙虫病东方体的恙螨幼虫叮咬后，立克次体侵入人体，先在局部组织细胞内繁殖，然后经淋巴系统侵入血循环形成东方体血症，而后播散至全身各组织和器官。东方体主要在小血管内皮细胞内繁殖，以出芽方式释放，一般不破坏细胞。菌体死亡后可释放毒素样物质是主要致病因子，可导致各脏器的病变及临床上的毒血症症状。临床主要表现为高热、毒血症、皮疹、焦痂和淋巴结肿大等。严重者可出现心肌炎、肺炎、DIC和脑炎，预后不良。叮咬处先出现红色丘疹，成水疱后破裂，溃疡处形成黑色焦痂，是恙虫病特征之一。

免疫性　感染后产生细胞免疫和体液免疫，前者起主导作用，尤其是Th1途径的细胞免疫。产

生的特异性抗体可增强巨噬细胞的吞噬和杀灭恙虫病东方体的作用。病后获得的免疫力对同株的再感染可持久数年，但对其他株的感染仅可维持数月。

四、微生物学检查法

标本采集　恙螨幼虫、感染者血液、尸体的血块、脏器或肿大的淋巴结是很好的检查材料。一般在发热期间、未用抗生素之前采取感染者的外周血及血清标本。

分离培养　用采集的标本制成接种材料，接种小鼠腹腔，或易感的细胞，观察动物的发病或细胞的病变。在动物濒死前取材涂片，或细胞培养2周后涂片，经染色后观察鉴定恙虫病东方体。

其他检查　应用外斐反应或IFA检测血清中相应抗体的变化，前者抗体滴度≥1∶160或早晚期双份血清效价呈4倍增长者有诊断意义，后者效价1∶80有诊断意义。也可用PCR或核酸探针检测恙虫病东方体核酸。

五、防治原则

在流行区，加强个人防护-防止恙螨幼虫叮咬、灭鼠-消灭传染源、除草-消灭恙螨孳生地是主要预防措施。目前尚无疫苗。采用四环素类抗生素和氯霉素治疗，禁用磺胺类药物。

第四节　无 形 体 科

立克次体目的无形体科下分7个属，其中3个属的立克次体对人有致病性，包括埃立克体属、无形体属和新立克次体属。尽管前两者为经典的动物病原体，但它们对人体致病分别于1987年和1990年才得到确认，因此它们是新发现的人兽共患性病原体。无形体科中对人致病的成员特性，见表18-3。

表 18-3　常见无形体的种类、所致疾病、流行环节及临床特点

种	所致疾病	临床特点	微生物学检查
查非埃立克体（*E. chaffeensis*）	人单核细胞埃立克体病（HME）	有蜱接触史、发热、畏寒、乏力、头痛、肌痛、胃肠道症状、部分有皮疹、白细胞和血小板减少	1. 从血或脑脊液中分离病原体 2. 血清学检测特异抗体 3. PCR法扩增特异DNA片段 4. 在单核细胞胞质中可见包涵体，但外周血中单核细胞数量少，故分离培养阳性率低
嗜吞噬细胞无形体（*A. phagocytophilum*）	人粒细胞无形体病（HGA）	同上	1. 2. 3同上 4. 在粒细胞中可见包涵体，外周血中粒细胞数量多，故分离培养阳性率高
腺热新立克体（*N. sennetsu*）	腺热	有食生鱼史、发热、畏寒、乏力、全身淋巴结肿大，单核细胞和非典型淋巴细胞增多	1. 2. 3同上 4. 单核细胞和非典型淋巴细胞增多

预防HME和HGA需要防护蜱，而预防腺热需慎食生鱼。无形体科病原体对四环素类抗生素敏感，临床治疗首选多西环素

第五节　贝纳柯克斯体

贝纳柯克斯体（Coxiella burnetii），是Q热（query fever）的病原体，亦被称Q热柯克斯体。1935年Derrick在澳大利亚一肉类加工厂的工人中发现一种原因不明的发热，称为Q热，意为疑问热。后经Burner等于1937年证明其病原体是贝纳柯克斯体。由于柯克斯体在形态与专性细胞内寄生方

面类似立克次体，所以过去将其归于立克次体目，现根据基因序列分析系统发育分类，确认柯克斯体属与立克次体属的亲缘关系相距甚远，而与军团菌属（*Legionella*）有最近的亲缘关系。

一、生物学性状

形态与染色 个体较小，宽0.2～0.4μm，长0.4～1.0μm，呈多形性，多为短杆状或球杆状，常排列成对。革兰染色着色不稳定，Gimenez或Macchiavello染色在绿色或蓝色背景上呈紫红色或红色。该菌为细胞内寄生菌，在宿主细胞空泡（吞噬溶酶体）中缓慢繁殖。可形成芽胞，但不含吡啶二羧酸，芽胞染色法可着色。

培养特性 可采用鸡胚卵黄囊培养或L929等细胞培养。有独特的发育周期，分小细胞的感染传播期和大细胞的繁殖期。繁殖一代约需12～16小时。

基因组 贝纳柯克斯体基因组分子量为1.04×10^9，含1.6×10^6bp，约为大肠埃希菌的1/3。贝纳柯克斯体带有4种不同的质粒，分别为36 kb QpHI、39 kb QpRS、33.5 kb QpDV和51 kb QPDG。

抗原性 与其他立克次体不同，贝纳柯克斯体与变形杆菌无交叉抗原。主要抗原为LPS，其为水溶性，肽聚糖化学组成与革兰阴性菌相似。另外，贝纳柯克斯体存在类似其他细菌的S→R的相变异。从人、动物或蜱组织中分离的贝纳柯克斯体为Ⅰ相菌，为含完整的脂多糖的强毒株；若Ⅰ相贝纳柯克斯体经鸡胚连续数十次传代，其菌体表面脂多糖出现严重缺陷，则变为Ⅱ相弱毒株。在Ⅰ相菌感染的早期，机体产生Ⅱ相抗体，晚期出现Ⅰ相抗体；而稳定的Ⅱ相菌株免疫仅能诱导机体产生Ⅱ相抗体。

抵抗力 贝纳柯克斯体对理化因素的抵抗力比大多数非芽胞菌强，而且耐气溶胶化。它对温度不太敏感，63℃ 30分钟或85～90℃ 5分钟常不能使其灭活。在脱脂牛奶中贝氏柯克斯体能够存活超过40个月；保存于冰箱内的肉和血液中的贝纳柯克斯体至少半年内具有感染力。贝纳柯克斯体对干燥的抵抗力特别强，在羊毛中可存活7～10个月，而在感染动物和蜱的干燥排泄物和分泌物中，贝纳柯克斯体可以存活数年。贝纳柯克斯体对乙醇、氯仿、乙醚等脂溶剂敏感，但对其他常用的化学消毒剂，如苯酚、次氯酸钠、来苏儿或甲醛不敏感。

二、流行环节

Q热遍及全球。传染源主要是受感染的牛、羊等家畜，蜱为动物间传播的媒介且可经卵传代。动物感染后多无症状，但乳汁、尿、粪中可长期带有贝纳柯克斯体，感染孕畜胎盘中存在大量贝纳柯克斯体，可通过胎盘、羊水、阴道分泌物排出。贝纳柯克斯体感染的家畜是人类Q热的主要感染源。含贝纳柯克斯体的尘土或污物所产生的气溶胶被人、畜吸入，通过呼吸道贝纳柯克斯体进入体内引起人、畜感染。

三、致病性与免疫性

致病性 贝纳柯克斯体的主要致病物质是脂多糖，具有完整脂多糖的Ⅰ相强毒株能够抵抗吞噬细胞的杀伤作用，并能够在吞噬细胞内生长、繁殖。病原体进入人体后，先在局部的单核细胞内生长繁殖，然后进入血循环，引起柯克斯体血症。贝纳柯克斯体可随单核细胞经血流进入肺、肝、脾等脏器，在这些脏器的巨噬细胞内大量繁殖，引起这些脏器的损伤。贝纳柯克斯体抗原与相应抗体形成免疫复合物引起免疫病理变化也可能是引起机体损伤的机制之一。

所致疾病 Q热临床上分为急性和慢性两种类型。急性Q热通常在感染后经14～28天潜伏期突然发病，高热、寒战、头痛、肌肉疼痛和食欲减退等类似流感症状，严重感染常合并肺炎和肝炎。如贝纳柯克斯体在体内长期存在，持续发热或反复发热超过半年，血清学检查Ⅰ相抗体效价持续升高，即为慢性Q热。慢性Q热引起多器官损伤，主要引发心内膜炎、慢性肝炎、骨髓炎。

免疫力 病后可获得一定的免疫力，以细胞免疫为主，体液免疫也有一定作用。

四、微生物学检查法

标本采集一般在发热期间、使用抗生素前采取外周血及其血清标本。

病原学检查　豚鼠对贝纳柯克斯体易感，可采用患者血液进行腹腔接种豚鼠，发热时取肝和脾涂片检查，Gimenez或Macchiavello染色后根据其形态，以及特异性抗体直接免疫荧光检测结果进行鉴定。可用PCR或实时荧光定量PCR检测样本中贝纳柯克斯体DNA。

血清学检查　可用补体结合试验、间接免疫荧光试验或ELISA检测血清样本中Q热抗体。

五、防治原则

预防应着重防止家畜的感染，对乳制品严格消毒。对易感人群可接种用Ⅰ相菌株制成的灭活疫苗，该疫苗能刺激机体产生特异性细胞免疫和体液免疫，免疫保护效果好。

第六节　汉赛巴通体

巴通体属（*Bartonella*）是一组革兰氏阴性的多形性杆状微生物，其与立克次体、埃立克体、布氏杆菌、植物肥大病菌等同属变形菌纲的α-亚群（α-proteobacteria）。该属包含11个种，其中对人致病的有汉赛巴通体（*B. henselae*）、五日热巴通体（*B. quintana*）、杆菌状巴通体（*B. bacilliformis*）和伊丽莎白巴通体（*B. elizabethae*），所致疾病见表18-4。

表18-4　主要致病性巴通体及其所致疾病*

	病原体	所致疾病	宿主	传播媒介	感染方式	分布	病死率
免疫功能正常者	汉赛巴通体	猫抓病	猫、其他猫科动物	猫蚤?	被猫抓伤或咬伤，有感染性蚤粪污染皮肤	世界性分布?	极少死亡
	五日热巴通体	战壕热	人	体虱	虱粪中或虱被挤破逸出的病原体经皮肤抓痕或破损处及眼结膜	世界性分布多见寒冷或卫生条件差的地区	极少死亡
	伊丽莎白巴通体	心内膜炎	不详	不详	与静脉吸毒及城市中的沟鼠和褐鼠有关?	美国	不详
	杆菌状巴通体	人巴通体病、奥罗亚热、秘鲁疣	人	白蛉	感染的白蛉叮咬	中、南美洲、安第斯山山谷	< 5%
免疫功能低下者	汉赛巴通体	杆菌性血管瘤、杆菌性紫癜、菌血症、心内膜炎	猫、其他猫科动物	猫蚤?	同猫抓病	世界性分布，多见HIV/AIDS较多的国家	极少死亡
	五日热巴通体	杆菌性血管瘤、杆菌性紫癜、菌血症、心内膜炎、淋巴结炎	人	体虱	同战壕热	世界性分布，多见HIV/AIDS较多的国家	极少死亡

*采自：黄松如．巴通体病．热带医学．2th．贺联印．北京：人民卫生出版社，2004

一、生物学性状

巴通体属的细菌形态多样，主要为杆菌，革兰染色阴性。巴通体为兼性细胞内寄生菌，可在无生命的培养基中培养，但需要含动物血的营养丰富培养基，且生长缓慢。

汉赛巴通体为细小微弯曲杆菌状，大小约0.5 ~ 1μm。对糖不发酵，缺乏氧化酶和过氧化物酶。革兰染色阴性，Giemsa染色呈紫蓝色。

二、流行环节

传染源为猫或狗，尤其是幼猫。猫口腔、咽部的病原体经机体的伤口或通过猫污染的毛皮、脚爪侵入而传播，75%的病例有被猫或狗抓伤、咬伤的历史，多发于学龄前儿童及青少年。尚无人传人的报道。感染的动物不发病。

三、致病性与免疫性

汉赛巴通体所引起的猫抓病是一种良性、自限性、急性传染病。病原体从抓伤处进入体内，3～10日后局部皮肤出现丘疹或脓疱，继而发展为以局部引流淋巴结肿大为特征的临床综合征，出现发热、厌食、肌痛、脾肿大等。常见的临床并发症是结膜炎伴耳前淋巴结肿大（Parinaud眼淋巴腺综合征），系猫抓病的重要特征之一。少数病例可累及肝、脾、肺、骨髓及中枢神经系统，免疫功能低下或艾滋病患者合并此病，病情多较严重，见表18-4。

四、实验室检查

可取病灶组织（淋巴结、皮肤、肉芽肿等）作超薄切片，进行组织病理学检查。此外，还可用羊血琼脂或巧克力色琼脂等培养基，或采用原代细胞或传代细胞，对新鲜组织标本培养和鉴定。

预防方面尚无特异性措施。与猫、狗接触时避免被抓伤或咬伤，若被抓、咬伤后，可用碘酊局部涂抹，对感染猫应进行扑杀。

可选用环丙沙星、多西环素、红霉素或阿奇霉素、利福平等治疗感染猫或病人。

展　望

近年来，随着新型分类学的快速发展，原有的分类已不能准确反映现行立克次体目、科和各种属之间的关系。因此，学者们已将巴通体和贝纳柯克斯体排除在立克次体之外，并对无形体科进行新的组合。但新的分类方法尚待继续深入研究以确保其合理性。

目前对多数立克次体的致病物质和致病机制了解甚少。立克次体感染后，机体虽可产生一定的免疫效应，但其诱导的免疫病理性损伤也是不少立克次体的主要致病机制之一。因此，一些学者对立克次体的抗原及其功能表位、机体对不同T细胞和B细胞亚群应答特点及其差异等进行深入研究，以期阐明其致病机制。立克次体多引起人兽共患性疾病，从20世纪末期已陆续发现多种动物性立克次体在人体引起的疾病，这也引起医学研究者对动物性疾病病原的重视。进一步探讨研究人和动物性立克次体的基因组、蛋白组及其与机体组织细胞的相互作用，将为深入了解相关立克次体发病机制奠定坚实的基础。

多数人立克次体病缺乏典型的临床表现，又有潜伏期短、发病急、以节肢动物为传播媒介和储存宿主的特征。目前，多数立克次体感染尚缺少早期、快速、特异、敏感和简便的实验室诊断方法，这给相应疾病的临床诊断带来一定困难。此外，多数立克次体感染仍无疫苗预防，所以，建立特异而敏感的实验室诊断新方法和研制有效的疫苗迫在眉睫。

（罗恩杰　温博海）

第十九章 放线菌属与诺卡菌属

放线菌（Actinomycetes）是一类呈分枝生长的原核细胞型微生物。最早由Bollinger在1877年从牛颈肿病灶中分离到一种厌氧性霉菌样病原体，Harz依据在病灶颗粒中此病原体放射状的外貌，称之为牛型放线菌（Actinomyces bovis）。而后在自然界中又发现需氧的放线菌。放线菌在自然界中广泛存在，但主要分布于土壤，尤其是含丰富有机质的土壤。

放线菌种类繁多，与医学有关的如厌氧的放线菌属、蛛网菌属、双岐杆菌属、罗氏菌属和需氧的诺卡氏菌属、马杜拉放线菌属、嗜皮菌属及链霉菌属等。但多数放线菌不致病，常见对人有致病作用的有放线菌属和诺卡氏菌属等，可引起放线菌病（actinomycosis）、诺卡菌病（nocardiosis）、足分枝菌病（mycetoma）等。此外，放线菌也是一个重要的药物资源，已经研究的近万种抗生素的80%来源于放线菌，一些酶、维生素、氨基酸等药物的生产与其关系密切。

Actinomycetes are transitional forms between bacteria and fungi. Like bacteria, they have cell walls containing muramic acid, prokaryotic nuclei and are susceptible to antibacterial antibiotics but, like fungi, they form a mycelial network of branching filaments. They are however true bacteria with a superficial resemblance to fungi. They are related to mycobacteria and corynebacteria and are Gram positive, nonmotile, nonsporing, noncapsulated filaments that break up into bacillary and coccoid elements. Most of actinomycetes are free-living, particularly in the soil.

Actinomycetes include many genera of medical interest such as the anaerobic Actinomyces, Arachnia, Bifidobacterium, Rothia and aerobic Nocardia, Actinomadura, Dermatophilus and Streptomyces. The major pathogens of Actinomyces are responsible for human infections: actinomycosis, nocardiosis, and actinomecetoma.

放线菌是一类丝状分枝生长的微生物，长期以来被认为隶属于真菌。但其结构和化学组成与细菌更为相似。

放线菌菌体革兰染色阳性、有分枝生长的长丝，可缠绕成团，形成菌丝体（mycelia）。菌丝的横径较真菌细，约为0.2～1.2μm。菌丝可分为基内菌丝（substrate filament）和气生菌丝（aerial filament）。后者可分化出孢子丝（spore-bearing filament）并产生孢子（spore），酷似真菌。故此曾被列入真菌。但它们实则是细菌，是一类具有分枝状细胞的原核细胞型微生物，其依据：①放线菌具有原始的核质，无核膜和核仁；②其细胞壁由肽聚糖和磷壁酸组成，前者含有二氨基庚二酸（DAP）；③放线菌的核蛋白体沉降系数为70S；④放线菌以分裂方式繁殖；⑤对常用的抗生素敏感，而对抗真菌药物不敏感。

放线菌的分类

从1877年发现放线菌至今已有100多年的历史，其分类的研究起源于20世纪40年代，但直至60年代，依据经典的分类法和化学分类法，放线菌才被归属于原核生物界、厚壁菌门、放线菌纲、放线菌目。随着科学技术的发展，新的分类法的引入，特别是分子分类法，如DNA碱基组成比例[（G+C）mol%]、核酸杂交、核酸结构（16SrRNA序列）及DNA指纹图谱分析等方法，其分类取得很大进展。在《伯杰系统细菌学手册》（第9版）中已把放线菌分为53个属，并已收藏数千个菌种。

但医学上主要的放线菌包括放线菌属（Actinomyces）、诺卡菌属（Nocardia）和链霉菌，表19-1对其主要特性进行了比较。

表19-1　医学主要放线菌属特性比较

菌属	形态	抗酸性	培养特性	分布	致病或用途
放线菌	分枝生长杆状菌	非抗酸性丝状菌	厌氧或微需氧	口腔、上呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道，内源性感染	慢性蜂窝组织炎等
诺卡菌	分枝生长杆状菌	弱抗酸性丝状菌	专性需氧	土壤中，外源性感染	肺炎、皮肤脓肿、脑脓肿等
链霉菌	分枝生长杆状菌	非抗酸性丝状菌	专性需氧	土壤中	罕见感染，多用于抗生素生产

第一节　放线菌属

放线菌常定居在人和动物的口腔、上呼吸道、胃肠道、泌尿生殖道的黏膜表面，并不致病。在一定低氧条件下，放线菌一旦突破黏膜屏障，就会引起疾病。因此，放线菌为机会性致病菌，多引起慢性化脓性炎症。常见致病性放线菌有衣氏放线菌（*A. israelii*）、内氏放线菌（*A. naeslundii*）、黏液放线菌（*A. viscous*）、龋齿放线菌（*A. dentalcariosus*）和牛型放线菌（*A. bovis*）等，其中对人致病力较强的是衣氏放线菌。

一、生物学性状

放线菌为革兰阳性非抗酸性丝状菌，无荚膜、无芽胞和无鞭毛。菌丝细长，直径为0.5～0.8μm，末端膨大；菌丝断裂形成链球或链杆状，在形态上与类白喉杆菌很相似（图19-1）。

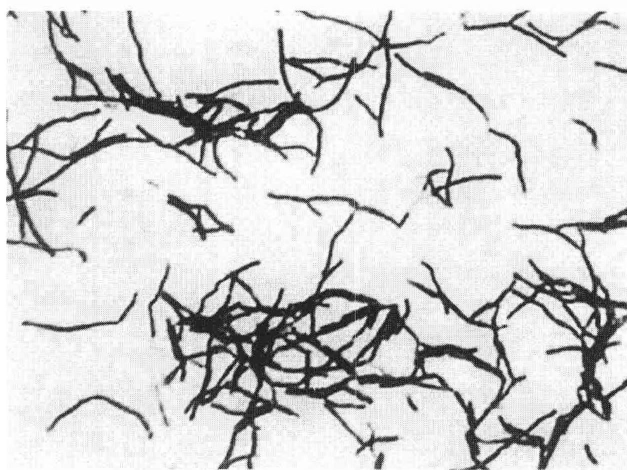


图19-1　放线菌形态

培养放线菌较为困难，初次分离在厌氧或微需氧条件下，加5%～10%的CO_2有利于生长，培养温度为35～37℃。在葡萄糖肉汤中，形成灰白色团状沉淀物。在血琼脂平板上培养4～6天，形成表面粗糙、灰白色或淡黄色的微小圆形菌落。不溶血、过氧化氢酶实验阴性。能分解葡萄糖，产酸不产气，无吲哚形成。衣氏放线菌可分解木糖和还原硝酸盐，而牛型放线菌可水解淀粉，以便两者进行区别。

在患者病灶组织、窦道和瘘管流出的脓液中，可找到肉眼可见的、呈淡黄色、直径一般不超过1mm的小颗粒，称为硫磺样颗粒（sulfur granule）（图19-2）。其是放线菌在组织中形成的菌落，将其制成压片或病变组织切片，在显微镜下可观察到颗粒呈菊花状，核心部分致密、由分枝的菌丝交织组成，呈革兰阳性；周围为呈放射状排列嗜酸性的长菌丝，菌丝末端有胶质样物质组成的鞘包围，膨大呈棒状，胶质样鞘呈革兰阴性。经苏木精伊红染色，中央部分呈紫色，末端膨大部分呈红色。

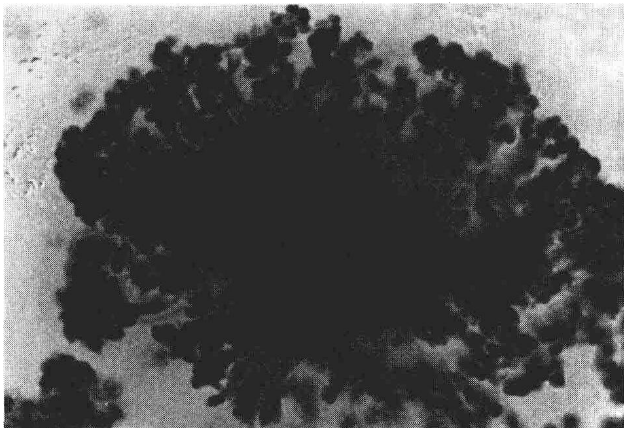


图19-2 硫磺样颗粒

二、致病性与免疫性

感染条件 放线菌为人体的正常菌群，多存在于人的口腔、上呼吸道和胃肠道等与外界相通的腔道中。在一定条件下，如机体抵抗力下降，口腔卫生差，局部黏膜受到损伤、免疫抑制、重度感染时，放线菌可引起内源性感染，表现为软组织的化脓性炎症。若无其他继发感染则多呈慢性肉芽肿，常伴有多发性瘘管的形成，流出的脓液中可找到特征性的硫磺样颗粒，称放线菌病。

感染途径与临床表现 最常见的感染为面颈部，约为患者的60%。感染多来源于口腔黏膜的细菌。其沿导管进入泪腺和唾液腺，或直接蔓延至眼眶和其他部位，若累及颅骨可引起脑膜炎和脑脓肿。病变多见于面颊部、颈部。发病初期局部有无痛性硬结或肿块，可伴有发热、盗汗等症状。胸部感染是经气管、支气管吸入或经血行传播。多表现为咳嗽、脓痰、咯血、胸痛和发热等。损害也可扩展到心包和心肌，并能穿破胸膜和胸壁，在胸部体表形成多发性瘘管和排出脓液。腹部感染常来源于肠道或生殖道，表现为腹部肿块、腹痛、便血和排便困难，易于肿瘤相混。术后标本切片可见多个散在的硫磺样颗粒。盆腔感染多继发于腹部感染，也可因避孕用具在子宫内放置不合适或使用不洁避孕用具所致。原发性皮肤放线菌病常由外伤或昆虫叮咬引起，先出现皮下结节，然后结节软化，破溃后形成窦道或瘘管。脊椎的感染常继发于其他病灶，早期出现轻微的神经症状，如颈、背部疼痛；晚期脓肿或肉芽组织形成，导致出现脊髓压迫症状。

放线菌与龋齿和牙周炎有关，动物实验证实黏液放线菌和内氏放线菌可使啮齿类动物患龋齿和牙周病。放线菌能产生一种多糖，即6-去氧太洛糖（6-deoxy talose），该糖可将口腔中的放线菌和其他细菌黏附在牙釉质表面形成菌斑和生物膜，而细菌分解食物中的糖类产酸，酸化和腐蚀牙釉质形成龋齿，其他细菌可进一步侵入而引起牙龈炎和牙周炎。

放线菌病患者血清中可检出多种抗体，但这些抗体对临床诊断和机体的保护性效应意义不大。机体对放线菌的免疫主要靠细胞免疫。

三、微生物学检查与防治原则

微生物学检查 主要是从脓液、痰液、灌洗液、引流液和组织切片等标本中寻找硫磺样颗粒。将其制成压片，显微镜下观察是否有放射状排列、形似菊花状的菌丝。必要时需作厌氧培养，培养温度为37℃，1～2周可形成白色、边缘不规则的粗糙型菌落，其表面干燥、皱褶或呈颗粒状。观察菌落和涂片，经革兰染色后镜检，也可进一步作抗酸染色或生化实验以区别放线菌和诺卡菌（亦有在厌氧血琼脂平板上35℃培养48小时，形成中等大小的光滑型或粗糙型菌落的描述）。

防治原则 注意口腔卫生，及早治疗牙周炎和牙周病是预防放线菌病的主要措施。放线菌对多种抗生素敏感，对患者的治疗首选青霉素，应较大剂量长时间应用。对已形成的脓肿窦道和瘘管，应及时进行外科手术清创处理。

第二节 诺卡菌属

诺卡菌属（Nocardia）是一群需氧、可形成气生孢子的放线菌、广泛分布于土壤中，不属于人体的正常菌群，故不呈内源性感染。对人类致病的主要有星形诺卡菌（*N. asteroides*）、巴西诺

卡菌（*N. brasiliensis*）、豚鼠诺卡菌（*N. caviae*）、鼻疽诺卡菌（*N. farcinica*）和南非诺卡菌（*N. transvalensis*），前者致病力最强，在我国最为常见，可引起局灶性或播散性感染。

一、生物学性状

诺卡菌形态与放线菌相似，革兰染色阳性，菌丝纤细可分枝或断裂形成杆菌或球菌样体，但菌丝末端不膨大。部分诺卡菌抗酸染色呈弱抗酸性，若用1%盐酸乙醇延长脱色时间，即为阴性，此点可与结核分枝杆菌相区别。诺卡菌为专性需氧菌，在普通培养基或沙保培养基上，22℃或37℃条件下均可生长，但繁殖速度较慢，一般需5～7天方可见到菌落。菌落表面干燥、有皱褶或呈颗粒状，不同种类可产生不同色素。在液体培养基中，由于需氧可浮于液面形成菌膜，培养基澄清。

二、致病性与免疫性

诺卡菌感染主要为外源性感染。其中星形诺卡菌主要通过呼吸道吸入或创口侵入机体，尤其易感染免疫力低下的感染者，如AIDS患者、肿瘤患者、长期应用皮质激素、免疫抑制剂和广谱抗生素的患者及严重肺部疾病的患者，引起原发性化脓性肺部感染，产生类似肺结核症状。也可经肺部病灶转移至皮下组织或经皮肤创伤感染，产生脓肿及多发性瘘管，或扩散到其他脏器，如引起脑脓肿、腹膜炎等。在病变组织或脓汁中可见黄、红、黑等色素颗粒。巴西诺卡菌可经创口侵入皮下组织，引起慢性化脓性肉芽肿，很少播散，表现为肿胀、脓肿及多发性瘘管，好发于足、腿部，又称为分枝菌病（mycetoma）。

三、微生物学检查法

可通过采集感染患者的痰液、支气管灌洗液、病灶渗出液和脑脊液、脓液、分泌物或其他病理材料，仔细查找黄、红或黑色颗粒状的诺卡菌菌落，其直径一般小于1mm，或采集的各种标本先涂片或压片，经革兰和抗酸染色后镜检。若发现革兰阳性纤细分枝状的菌丝体和长杆菌，抗酸染色弱阳性，可初步确定为诺卡菌。但在脑脊液或痰中发现抗酸性的长杆菌，必须与结核分枝杆菌相鉴别。必要时将标本接种于沙氏等培养基，做需氧培养，培养1周左右可见到菌落。或作血清学试验及动物试验予以确诊。应注意该菌侵入肺组织可形成L型，在常规培养阴性的时候，应做细菌L型培养。

四、防治原则

局部瘘管和脓肿等以手术清创为主，切除坏死组织。可用环丝氨酸和磺胺类药物作抗感染治疗的首选药物，治疗通常不少于6周。

展　望

尽管目前分子分类方法，如DNA杂交、DNA限制性酶切图谱分析、16S rRNA序列分析、DNA指纹图谱等手段对放线菌进行分类学鉴定，但其操作较为繁琐，方法也还有待进一步完善。伴随科技的发展，新的方法和手段必将应用于放线菌研究方面，特别是新的分类学方法有待出现。放线菌分类学的发展，将为人类更好地认识放线菌、利用放线菌提供良好的保证。

由于不同的放线菌感染，无特异性临床症状和体征，治疗也是以长期大剂量青霉素或磺胺类药物为首选，因此迫切需要简便、快速和可靠的诊断和菌种鉴定技术及新型抗生素用于临床。

此外，天然抗生素中约80%是由放线菌产生的放线菌，因此利用新型科技手段，改良方法，提高放线菌的抗生素生产水平。并利用放线菌的生物学特性开发新型生物制剂，为民造福。

（罗恩杰）



第二篇 病毒学

第二十章 病毒的基本性状

病毒（virus）是一种特殊的生命体，它是专一性在活细胞内寄生的非细胞型微生物。与其他微生物相比较，病毒具有独特的特点：①体积微小，病毒大小的计算单位为纳米（nanometer，nm），可以通过除菌滤器，借助电子显微镜才能看到；②结构简单，无完整的细胞结构；③遗传物质单一，仅含有一种核酸（DNA或RNA）；④严格的活细胞内寄生，在细胞外不能存活，依靠细胞提供的能量、原料物质及生物大分子合成机制，完成病毒的生物合成；⑤病毒的增殖方式是复制，由前体成分装配构成子代，不能自身生长和分裂繁殖；⑥病毒对常用抗生素一般不敏感，但对干扰素敏感。因此，病毒被列为一个独立的生物类型。

病毒在自然界分布非常广泛，可在人、动物、植物、昆虫、真菌和细菌中寄居并引起感染。病毒与人类疾病的关系极为密切，人类的传染病约75%是由病毒引起的。有些病毒传染性强，可引起世界大流行（如流感等）。有些病毒病的病情严重，病死率高（如艾滋病等）。除急性感染外，病毒还可引起持续性感染，有的病毒还与肿瘤、先天畸形和自身免疫病的发生密切相关。近些年来，由新现和再现病毒引起的感染和生物安全事件已成为事关全球的重大问题。因此，病毒感染的防治已成为人类关注的热点。医学病毒学（medical virology）是研究病毒与人类疾病关系的一门学科，承担研究人类病毒的生物学特性、致病性、免疫性和诊断、防治方法的重要任务，目的在于控制、消灭病毒性疾病，保障人类健康。

Viruses are very small infectious agents, which can only be viewed with the aid of an electron microscope. Viruses are obligate intracellular parasites. They can reproduce only within living cells, because they cannot generate energy or synthesize proteins to replicate independently. The virus particle structure is very simple, which is composed of either RNA or DNA（but not both）that is encased it a protein coat called a capsid. More complicated viruses（enveloped viruses）have the viral envelope structure. Viruses are usually resistant to many antibiotics.

Viral replication occurs only in living cells. Viral replication is similar for all viruses in a specific family. Viral replication has a sequential pattern that includes the following steps: ①Attachment, ②Penetration, ③Uncoating, ④Synthesis of early proteins, late proteins, and genome replication, ⑤ Assembly, ⑥Mature, ⑦Release. Another, more general way to describe the growth cycle is as follows: ① Early events: attachment, penetration, and uncoating. ② Middle events: Gene expression and genome replication. ③Late events: Assembly, mature and release.

One-step multiplication curves show that viruses have an eclipse period（the time from the start of infection to tile first appearance of intracellular infectious virus）and a latent period（the time from

the start of infection to the first appearance of extra-cellular virus）. It indicates that viruses take a much longer time （hours or days） to replicate.

When two genetically distinct viruses infect a cell，three different results can ensue. ①Recombination and reassortment，②Complementation，③In phenotype mixing and exchange. The study of viral genetics falls into two general areas：① mutations and their effect on replication and pathogenesis，and ② the interaction of two genetically distinct viruses that infect the same cell. In addition，viruses serve as vectors in gene therapy and in recombinant vaccines，two areas that hold great promise for the treatment of genetic diseases and the prevention of infectious diseases.

第一节　病毒的形态、结构与化学组成

一、病毒的形态

完整的成熟病毒颗粒称为病毒体（virion），是细胞外的结构形式，具有典型的形态、结构并具有感染性。病毒体虽然微小，但其大小、形态和结构是认识、确定和研究病毒的前提，也是病毒形态学研究的主要内容。可通过电子显微镜（超薄切片、磷钨酸盐负染及扫描电镜等）技术、超速离心、分级超过滤和X线晶体衍射等技术来研究病毒的大小、形态和结构。

病毒的大小差别悬殊　病毒体的大小，球形病毒用其直径长短表示，其他形状病毒以长度×宽度表示。不同病毒体大小相差很大，一般介于20～250nm之间。最大的痘病毒约300nm，最小的脊髓灰质炎病毒、鼻病毒等只有20～30nm（图20-1）。

病毒形态的多样性　不同病毒的形状也不同，但多数呈球形和近似球形，少数为子弹形、砖块形。噬菌体（细菌病毒）呈蝌蚪形，而植物病毒多数为杆状（图20-2）。大部分病毒的形态较为固定，但有些病毒则具有多形性，如正黏病毒形状可呈球形、丝状和杆状。

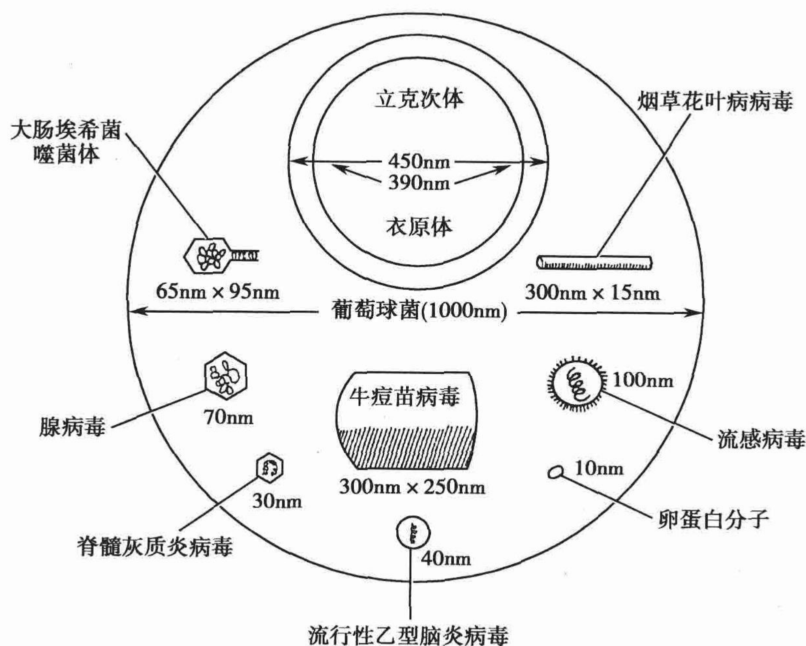


图20-1　微生物大小的比较

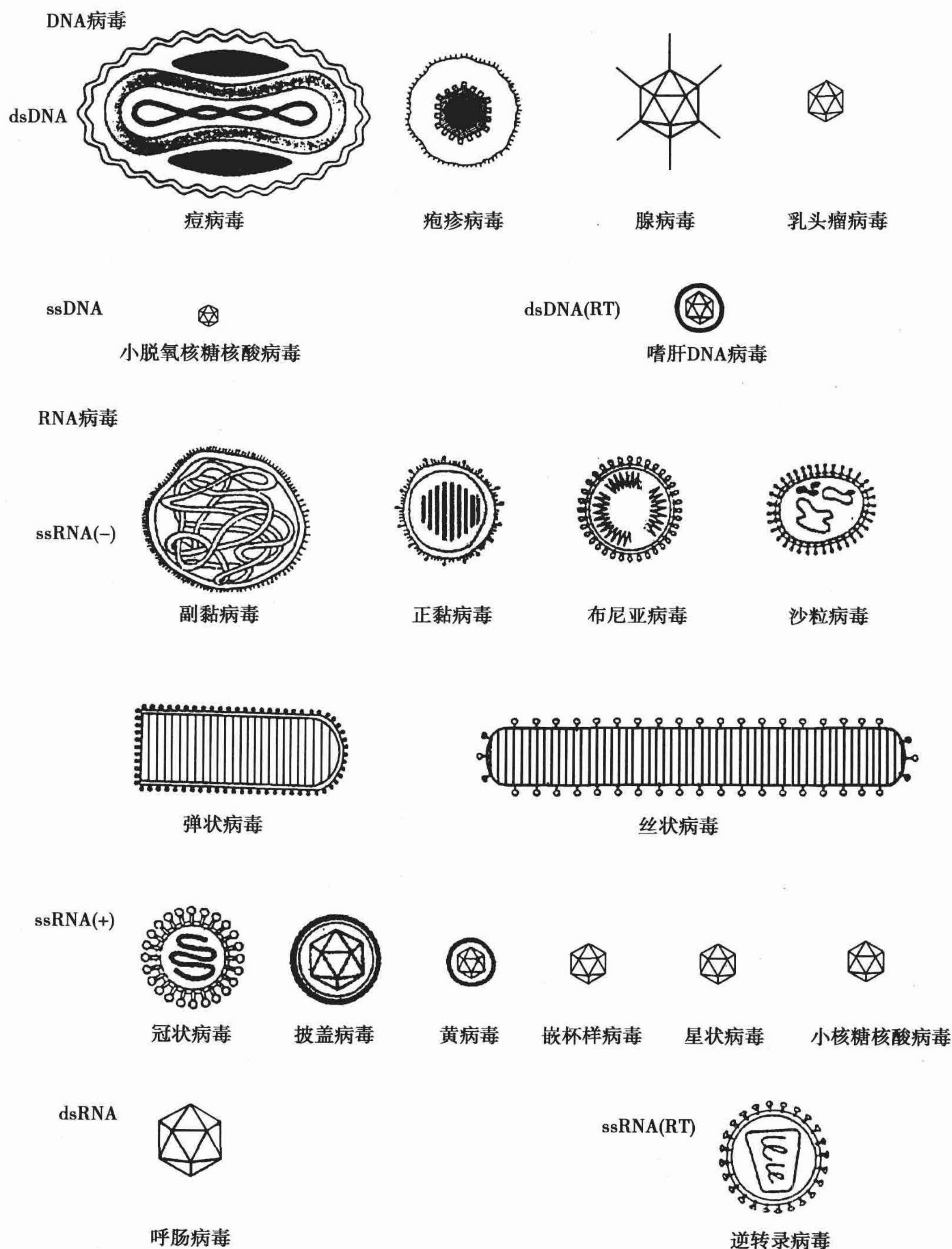


图20-2　人类病毒形态、大小和结构示意图

二、病毒的结构与化学组成

（一）病毒的结构

病毒体的主要结构由核心（core）和衣壳（capsid）构成核衣壳（nucleocapsid），有些病毒的核衣壳外部还有包膜（envelope）包裹（图20-3）。

1. 病毒核心（Viral core）　病毒体核心成分主要为核酸，构成病毒基因组（genome）。病毒体核心除由一种核酸DNA或RNA组成外，还有少量的非结构功能性蛋白质参与，如病毒自己编码的一些酶类。

2. 病毒衣壳（Viral capsid）　包围在核酸外面的蛋白外壳称衣壳，其主要功能是保护核心内的核酸免受破坏，并能介导病毒核酸进入宿主细胞。衣壳具有抗原性，是病毒体的主要抗原成分。核心和衣壳共同组成核衣壳。无包膜的病毒的核衣壳就是病毒体。

衣壳由一定数量的壳粒（capsomere）组成，在电子显微镜下可见壳粒的形态。每个壳粒称为一个形态亚单位（morphologic subunit）。每个壳粒是由一些多肽分子组成，多肽分子又称结构亚单位（structural subunit）或化学亚单位。不同病毒体衣壳所含壳粒数目和排列方式不同，可作为病毒鉴别和分类的依据。

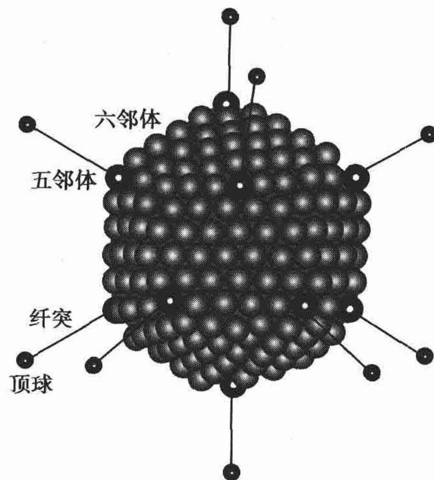


图20-3　腺病毒表面结构示意图
（衣壳二十面体立体对称结构）

根据壳粒排列方式的不同，病毒结构有以下几种对称型：

（1）螺旋对称型（helical symmetry）：壳粒沿着螺旋形的病毒核酸链对称排列，见于大多数杆状病毒、弹状病毒、正黏和副黏病毒（图20-4）。

（2）20面体立体对称型（icosahedra symmetry）：核酸浓集成球形或近似球形结构，外周壳粒排列成20面体对称型，构成20个面、12个顶、30个棱的立体结构。20面体每个面呈等边三角形，由许多壳粒镶嵌组成。多数顶角由5个相同壳粒组成，称五邻体。多数病毒的三角形面由6个壳粒组成，称之为六邻体。球状病毒多数呈这种对称型（图20-4）。

（3）复合对称（complex symmetry）：结构复杂的病毒体，壳粒排列既有螺旋对称，又有立体对称形式，如痘病毒和噬菌体。

3. 病毒包膜（Viral envelope）　无包膜病毒体称裸露病毒（naked virus）。有些病毒在核衣壳外有包膜围绕，带有包膜的病毒体称为包膜病毒（enveloped virus）。包膜是病毒在成熟过程中，病毒核衣壳穿过宿主细胞膜以出芽方式向细胞外释放时获得的。包膜含有宿主细胞的膜成分（脂类、蛋白质和多糖），包膜蛋白则多由病毒基因组编码。包膜表面常有突起，称为包膜子粒或刺突（spike）。包膜的性质和功能：①包膜构成病毒的表面抗原，具抗原性，可诱发机体免疫应答；②包膜与病毒入侵细胞和感染性有关；③包膜具有保护核衣壳的作用；④包膜对干燥、热、酸和脂溶剂敏感，乙醚因能破坏包膜而灭活病毒，故常用来鉴定病毒有无包膜。此外，某些包膜病毒在核衣壳外层和包膜内层之间还有基质蛋白存在。

病毒的大小、形态和结构在病毒分类学中有重要价值，在诊断病毒感染中也起到重要作用。我国洪涛教授在成人腹泻标本中观察到一定大小病毒体，据形态初步认定为轮状病毒，经基因组分析予以确定，从而在国际上首次发现了成人轮状病毒。

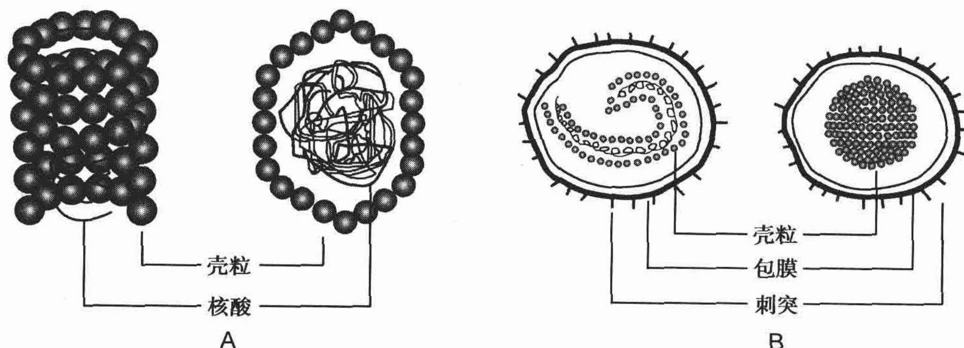


图20-4　病毒结构示意图
A. 立体对称的无包膜病毒；B. 具螺旋对称的有包膜病毒

（二）病毒的化学组成及功能

1. 病毒核酸　病毒核酸位于病毒体的核心，构成病毒体的基因组，为病毒的感染、增殖、遗传和变异提供遗传信息物质。病毒体内只含有一种核酸：DNA或RNA，据此把病毒分为DNA病毒和RNA病毒两大类。病毒核酸在结构、组成和功能上都具有与其他病原生物显著不同的特点（详见下节）。

2. 病毒蛋白质　病毒蛋白约占病毒体总重量的70%，均由病毒的基因组编码。可以分为结构蛋白（structure protein）和非结构蛋白（non-structure protein，NS）两大类。

（1）结构蛋白：结构蛋白指构成病毒有形成分（衣壳、包膜和基质）的蛋白质。经差速离心或密度梯度离心技术可分离到病毒体，再用蛋白分离技术（如SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳等）进行分离纯化，即可获得病毒结构蛋白的多肽成分。利用基因克隆、基因表达技术也可以研究病毒的结构蛋白。衣壳蛋白一般由多个多肽亚单位组成。包膜蛋白也是由病毒基因组编码，多为糖蛋白且突出于病毒体外。基质蛋白是连接衣壳蛋白和包膜蛋白的部分，多具有跨膜和锚定（anchor）的功能域。如正黏和副黏病毒的M基质蛋白（matrix protein）能促进包膜相互作用而有利于病毒装配；疱疹病毒的基质蛋白称被膜（tegument），含病毒蛋白，有助于起始子代病毒核酸的复制。结构蛋白的功能是：①保护病毒核酸，避免受到外界因素的破坏；②参与病毒的感染过程，如衣壳蛋白、包膜蛋白与病毒特异性吸附到细胞膜表面受体有关；③衣壳蛋白、包膜蛋白具有良好抗原性，可以用于特异性诊断，也可激发机体的免疫学反应。

（2）非结构蛋白：非结构蛋白是指由病毒基因组编码，但不参与病毒体构成部分的病毒蛋白多肽。它可以存在于病毒体内，也可以只存在于感染细胞中。非结构蛋白包括：①病毒编码的酶类，如蛋白水解酶、DNA多聚酶、胸腺嘧啶核苷激酶和逆转录酶等；②特殊功能的蛋白，如抑制宿主细胞生化合成的蛋白、某些经MHC递呈的病毒蛋白等，这类病毒蛋白仅存在于被感染细胞中。病毒非结构蛋白的研究已取得不少成就，如针对具有酶功能蛋白质设计抗病毒药物，发现某些非结构病毒蛋白具有转化宿主细胞作用，有些还具有抗细胞因子或抗细胞凋亡作用。因此，对病毒非结构蛋白的深入研究，在阐明病毒本质、揭示其致病机制和防治病毒病诸方面均有重要意义。

3. 脂类和糖类　主要存在于包膜病毒的包膜上，大部分来自宿主细胞膜。

第二节　病毒基因组的特征

病毒基因组是指携带全部病毒遗传信息的核酸总体，病毒核酸携带了病毒的全部遗传信息，决定了病毒基因组的复制和子代病毒的增殖及生物学性状。病毒是最简单的生命体，不能独立地复制，必须进入宿主细胞中借助细胞内的一些酶类和细胞器才能使病毒得以复制。病毒基因组构成必须具备容量小、组成简单、高效利用和适应性广的特点。因此，在研究病毒的基因组结构和功能时，必须把握三点：①病毒属于一种特殊的生命体，其基因组的构成复杂、存在形式多样和功能独特（表20-1）；②病毒严格寄生于真核细胞中，其基因结构必须具有真核基因的特点，如存在内含子序列，具有转录后的剪接和后加工过程；③病毒基因组小且简单，要完成生命复杂的复制和代谢活动，除了寄生依赖宿主细胞外，必然有自己独特的遗传信息结构、功能特征。病毒在生物进化过程中的地位处于早期阶段，但它有横跨两个生物界，兼有原核和真核细胞基因组的一些特点。

病毒基因组早就成为分子遗传学和分子生物学的研究材料，为这两门学科的诞生提供了丰富资料。近十年来几乎对所有病毒科的代表毒株进行了基因克隆和表达，测定了病毒基因组的全部核苷酸序列。病毒学也就成为运用分子生物学技术受益颇丰的领域，并诞生了分子病毒学（molecular virology）。需要强调的是，病毒也是人类基因组计划中的模式生物和现代生物技术中常用的载体。在医学领域，人类正在加快对病毒致病分子机制研究，开展探索利用病毒载体进行人类疾病的基因治疗，研发病毒性疫苗控制病毒性疾病的流行，并已取得可喜的进展。因此，深入进行病毒基因组的研究意义重大。

表20-1 病毒基因组核酸类型、结构的复杂性

基因组类型		DNA 病毒	举 例	RNA病毒	举 例
形状	线状	有		有，多有二级结构	
	单链	ss DNA	B19病毒	ss RNA	小RNA病毒
	双链	ds DNA	腺病毒	ds RNA	呼肠病毒
	环状	有		无	
	单链	有	噬菌体	无	
	双链	有	乳多空病毒	无	
完整性	不分节段	完整	都不分节段	有	肠道病毒
	分节段	无		有	某些RNA可有3～12段
大小（kb）		3～400		5～30	
成分构成	单倍体	都是	腺病毒等	有	多数RNA病毒
	双倍体	无		有	逆转录病毒
	单一序列	有	腺病毒等	有	多数RNA病毒
	重复序列	有	HSV、HPV	有	逆转录病毒
	杂合体	有	某些疱疹病毒	无	
核酸链性质	正链（正义）	ss DNA有	微小病毒	有	肠道病毒、黄病毒等
	负链（负义）	ss DNA有	微小病毒	有	正黏病毒
感染性核酸	双义	无		少数有	布尼亚病毒科
	具有感染性	?		有感染性	正链RNA病毒
	不具感染性	?		无感染性	负链RNA病毒

一、病毒基因组的结构特点

基因组结构包括：①基因组核酸自身的种类、形状和构成特点；②基因组核酸链上存在的功能区域，不同功能区域在整个DNA分子中的分布情况。

（一）病毒基因组核酸的结构特征

病毒基因组核酸存在形式多样，不同病毒的核酸种类、形状、组成和性质各不相同（表20-1）。病毒基因组的组成形式有：

1. 病毒基因组只含有一种核酸　病毒基因组的核酸有两种形式，可由DNA组成，也可以由RNA组成，但每种病毒颗粒中只能是含有一种核酸：DNA或RNA，两者一般不长期共存于同一病毒颗粒中。

2. 基因组核酸形状多样　形状有线型和环型之别，构成上有单链、双链之分。病毒基因组核酸有双链DNA、单链DNA、双链RNA、单链RNA四种组成形式。

3. 病毒基因组核酸大小差别悬殊　最小的细小病毒（parvovirus）为单链RNA病毒，仅3000多个碱基对（base pair，bp），最大的痘病毒则有400千个碱基对（kb）。

4. 基因组核酸链的组成方式多样　核酸链可以连续完整排列，也可分为多个节段。如RNA病毒中的出血热病毒、流感病毒和轮状病毒等基因组的核酸存在分节段现象。目前，还没有发现有节段性的DNA病毒基因组。

病毒基因组分段的优点在于减少病毒基因组包装压力，降低造成基因组核酸链断裂的可能性，提高编码能力。缺点是要求所有单个基因组片段必须被包装到一个病毒颗粒中，容易发生丢失、重组和重配。

5. 单链RNA病毒基因组核酸存在极性　依据基因组核酸是否具有mRNA的作用分为正链和负链RNA。正链RNA本身具备mRNA特性（如脊髓灰质炎等小RNA病毒），可以直接作为模板参与

病毒多肽的翻译。负链RNA则还需要再进一步合成具有mRNA功能的互补链RNA（如流感病毒等）参与翻译过程。

6. 多数病毒基因组都是单倍体 逆转录病毒基因组有两个分子拷贝。除其之外，其他病毒基因都是单拷贝基因，只出现一次。

7. 某些病毒核酸具有感染特性 有的病毒核酸在除去衣壳蛋白后，可进入易感宿主细胞并能增殖，具有感染性，故称为感染性核酸，如正单链RNA病毒（丙型肝炎病毒）基因组的核酸具有感染性。

（二）病毒基因组中功能区域的分布特征

病毒基因组中不同的区域具有不同的功能，有些是编码蛋白质的结构基因，有些是复制及转录所需的非结构蛋白基因或调控信号，有些区域的功能尚不清楚。基于病毒基因组核酸的特点和基因组功能的需要，它们的分布有以下特点。

1. 病毒基因组的大部分是编码序列 病毒基因组只有非常小的部分是非编码序列，这与真核细胞DNA的冗余现象迥然不同。病毒基因组中能够编码蛋白质和RNA分子的序列称为基因或开放读码框架（open reading frame，ORF），其余非编码序列多具有参与病毒基因组复制或基因表达调控的功能。

2. 病毒基因组中普遍存在重叠基因 病毒基因组较小，病毒核酸包装到核衣壳内时受到压力，体积要最小化。为了充分利用有限的核酸序列扩大信息量，病毒基因组中基因的排列常表现出互相重叠现象。基因重叠是指同一段核酸片段能够编码两种甚至三种蛋白质分子，这是病毒基因组的结构特点。这种现象在其他的生物细胞中仅见于线粒体和质粒DNA，该结构可保证较小的基因组能够携带较多的遗传信息。重叠基因有以下三种情况：①基因内基因，一个基因完全在另一个基因里面。如两个不同基因A和B，而B包含在基因A内；②部分重叠，如基因A和基因B及C的一部分基因重叠；③两个基因只有一个碱基重叠，如上一个基因终止密码子的最后一个碱基是下一个基因起始密码子的第一个碱基（如TAATG中的第三个碱基A的重叠）。

3. 功能相关基因簇集排列现象 病毒基因组DNA序列中功能相关的基因往往簇集在基因组的一个或几个特定的部位，形成一个功能单位或转录单元。它们可被一起转录成为含有多个mRNA的单个分子，然后再加工成各种蛋白质的模板mRNA，称为多顺反子mRNA（polycistronic mRNA），如腺病毒编码病毒的12种外壳蛋白晚期基因，在功能上都是相关的。人类黄病毒科的病毒基因组结构中非结构蛋白基因分布也呈现基因簇集排列。

4. 大病毒基因组中可插入外源基因 大病毒基因组中存在一些对于病毒繁殖并非必需的序列，当外来基因或核酸序列插入到这些部位时，插入突变并不影响病毒的复制和生存，所形成的含有外源遗传信息的重组体获得新的遗传性状。病毒基因组的这一特点，使得人类可以把病毒基因组加以改造，如成功构建了痘病毒载体、疱疹病毒载体和逆转录病毒等病毒克隆和表达载体，它们已被广泛作为生物技术基因转移和基因治疗人类疾病等领域内。

二、病毒基因组的功能特点

与病毒基因组结构上特点相适应，病毒基因组在复制、转录功能上也具有与其他生物不同的一些特点。

1. 复制有半保留和全保留形式 除了双链DNA病毒基因的复制遵循真核细胞的半保留复制规律外，其他病毒基因组，特别是RNA病毒基因组的复制有其固有特点，并不遵循通常的中心法则和一般规律，如dsRNA病毒和+ssRNA病毒具有全保留复制形式并形成复制中间体（详见病毒基因组复制方式多样性一节）。

2. 有较大的遗传不稳定性 容易发生核酸序列变异和产生基因突变。这主要是因为存在比较不稳定和容易变异的RNA病毒基因组、分节段不连续基因组容易受到内外环境因素影响和缺少复制后的校正酶等原因。

3. 病毒转录有固定的时间顺序 病毒基因按转录时间发生在病毒复制的前后做分类依据，分为早期转录基因和晚期转录基因。早期转录基因表达的酶和蛋白质为病毒复制和晚期转录做好准备；晚期转录基因主要是编码和合成病毒结构蛋白如衣壳蛋白和包膜糖蛋白，为病毒的包装和成熟做好准备。

4. 病毒转录的不对称性 双链病毒基因组的转录并不都是固定在同一条核酸链上，可以在不同核酸链的不同基因同时开始，产生多方向转录。

5. 病毒基因组的多顺反子转录 病毒基因组中的基因转录可表现为多个基因联合转录，多个基因的mRNA共同存在于一个mRNA分子上，然后通过剪接在形成各自基因的mRNA。如腺病毒编码病毒的12种外壳蛋白晚期基因，转录时在一个启动子的作用下生成多顺反子mRNA，然后再加工成各种mRNA，编码病毒的各种外壳蛋白，它们在功能上都是相关的。丙型肝炎病毒基因组结构中非结构蛋白基因转录也有此类现象。

6. 具有感染性和整合性 +ssRNA病毒和某些DNA病毒的基因组裸露核酸可感染易感细胞。另外，某些病毒基因组还具有整合到宿主基因组的功能，如逆转录病毒和乳头瘤病毒等病毒的基因组。

三、病毒基因组复制方式多样

病毒基因组的复制是指以亲代基因组核酸为模板，在宿主细胞内合成大量子代核酸遗传物质的过程。病毒基因组的多种类型不但决定了基因组复制方式的复杂性，也决定了病毒基因组复制过程（尤其是RNA病毒）的复杂性，这是分子病毒学研究的主要内容。按病毒基因组核酸类型将病毒基因组复制方式分为七大类型：双链DNA病毒、单链DNA病毒、正单链RNA病毒、负单链RNA病毒、双链RNA病毒、逆转录病毒和DNA嗜肝病毒七种类型的复制方式（表20-2）。

表20-2 病毒生物合成类型*

病毒核酸类型	病毒举例	复制中间体形成	基因组复制部位	蛋白质合成处	衣壳装配处	病毒成熟处
1. ds DNA	多数DNA病毒	没有	N	C	N	N/M
	痘病毒	没有	C	C	C	M
2. ss DNA	细小病毒 B_{19}，TTV	± ds DNA	N	C	N	C
3. +ss RNA	小RNA病毒	± ds RNA	C	C	C	C
4. -ss RNA	正黏病毒	± ds RNA	N	C	C	M
	副黏病毒		N	C	N	M
5. ds RNA	轮状病毒	没有	C	C	C	C
6. 逆转录病毒	HIV	有逆转录，-DNA，± DNA	N	C	C	M
7. DNA嗜肝病毒	HBV	有逆转录，-DNA，± DNA	N	C	C	M

*注：N：细胞核内；C：细胞浆；M：细胞膜

DNA病毒除痘类病毒外都在核内进行基因组复制，RNA病毒（除逆转录病毒外）的基因组复制全部在细胞质中进行。不同病毒类型的复制方式分述如下（图20-5）。

1. 双链DNA病毒的复制 人和动物DNA病毒的基因组绝大多数为双链DNA（dsDNA），除痘病毒外，dsDNA都在细胞核内合成和转录mRNA，在细胞质内合成病毒蛋白。dsDNA病毒的生物合成分三个阶段：①早期转录和翻译。dsDNA利用细胞核内RNA多聚酶，转录出早期mRNA，再在细胞质中的核糖体上翻译出早期蛋白质。早期蛋白主要为非结构蛋白，为病毒核酸复制提供DNA多聚酶和调节蛋白；②dsDNA复制。此时在解链酶的作用下dsDNA解链，按DNA半保留复制方式，以亲代单链DNA为模板，复制出子代双链DNA，两个子代dsDNA与亲代dsDNA结构完

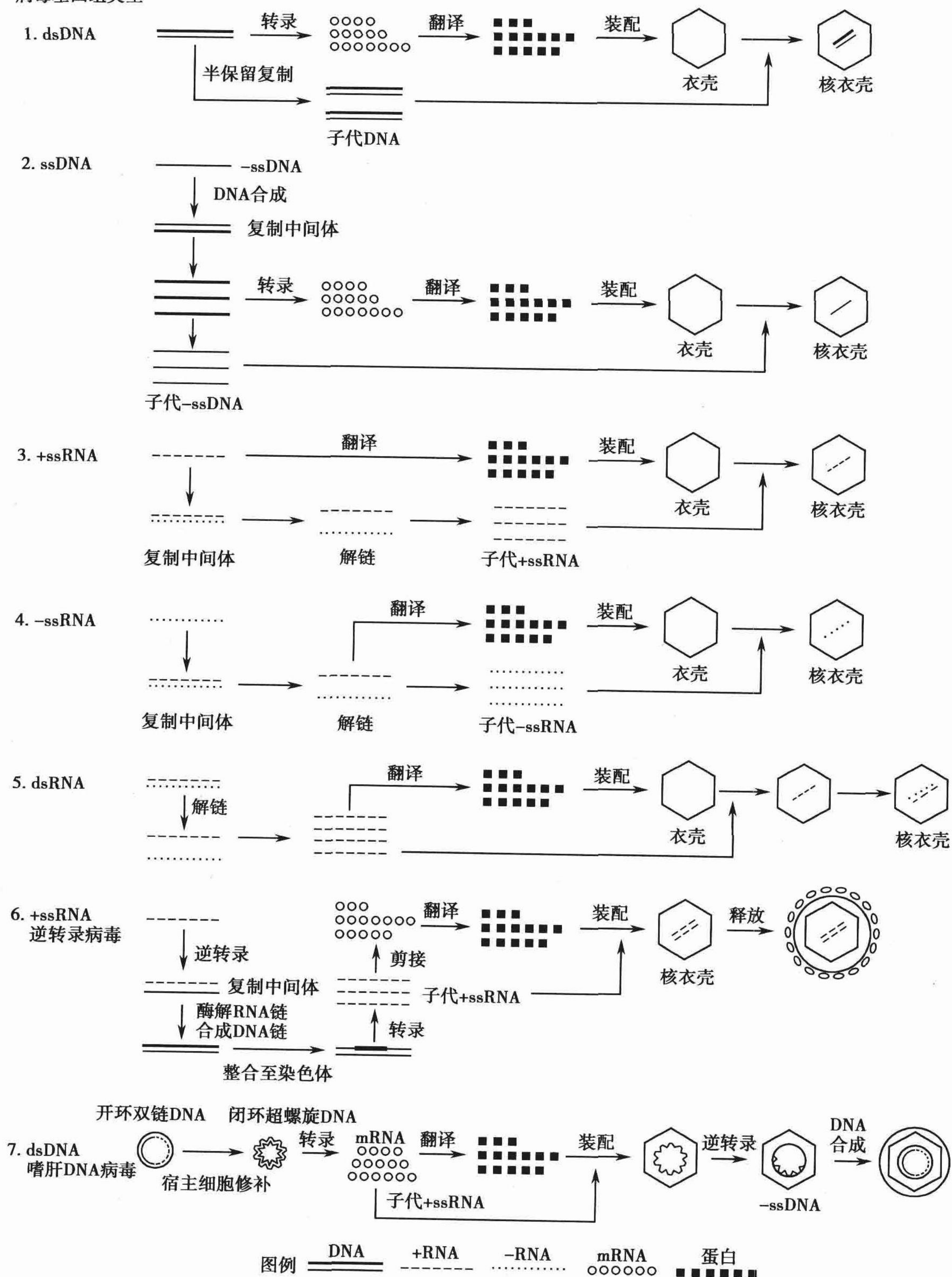


图20-5 不同基因组类型病毒的复制过程示意图

全相同；③晚期转录和翻译。以大量子代病毒DNA为模板，转录晚期mRNA，再经翻译合成晚期蛋白。晚期蛋白主要是病毒结构蛋白，为病毒装配做好准备。从这一生物合成过程可见，不同阶段需要不同类型的酶和调控蛋白，特别是病毒DNA本身编码的酶起着关键作用，因此成为设计抗病毒药物的“靶子”。

2. 单链DNA病毒的复制 单链DNA（ssDNA）病毒种类很少，微小病毒和人类输血传染病毒（TTV）均是ssDNA病毒。ssDNA病毒基因组可以是正链或者是负链，但只能是单链。其生物合成以亲代-ssDNA（负单链）病毒为例，先以-ssDNA为模板，合成一条互补链形成中间型dsDNA，然后解链再以新合成的互补链为模板复制出子代-ssDNA，由另一条链为模板转录mRNA后，进一步翻译出病毒的蛋白质。

3. 正单链RNA病毒的复制 正单链RNA病毒（+ssRNA）包括小RNA病毒、黄病毒、冠状病毒和某些出血热病毒。+ssRNA不但是复制子代病毒的模板，而且本身就具有mRNA功能。病毒进入细胞脱壳后，+ssRNA可直接与细胞核糖体结合进行翻译，产生病毒RNA多聚酶等早期蛋白和结构蛋白。RNA复制是以+ssRNA为模板，在病毒RNA多聚酶作用下合成一条互补负链，形成双链RNA复制中间体（replicative intermediate，RI），以负链RNA为模板，复制出子代病毒的基因组RNA，并不遵守半保留复制的遗传学规律。

4. 负单链RNA病毒的复制 多数有包膜的RNA病毒（如流感、腮腺炎及狂犬病毒等）属负单链RNA（-ssRNA）病毒，-ssRNA病毒本身虽可作为复制子代模板，但不具有mRNA的功能，病毒自身含有依赖RNA的RNA多聚酶。病毒进入细胞脱壳后，首先依赖病毒的RNA多聚酶，转录出互补正链RNA，形成复制中间体，然后以正链RNA为模板，既合成子代负单链RNA，又翻译出病毒的结构蛋白和非结构蛋白。

5. 双链RNA病毒的复制 人类病毒中只有呼肠病毒科是双链RNA（dsRNA）病毒，dsRNA基因组由10～12个非重叠的dsRNA节段组成。每个节段均可由病毒自身的RNA多聚酶转录出不同的mRNA。dsRNA病毒先由其负链RNA复制出子代新正链RNA，再由新正链RNA复制出新的负链RNA。所以其复制不遵循DNA半保留复制的原则，亲代基因组双链并不分离到子代中，属于全保留复制，子代RNA全部为新合成的RNA。正链RNA又翻译出病毒的结构蛋白和非结构蛋白质。

6. 逆转录病毒的复制 逆转录病毒（retroviruses）基因组非常独特，其RNA虽以正单链RNA形式存在，但含有两个相同的正链RNA分子，称正单链双体RNA（二倍体），而且都不具有mRNA功能，只能作为逆转录的模板。病毒体以含有逆转录酶为特征（依赖RNA的DNA聚合酶），其复制过程较复杂。在细胞质中，先以亲代RNA为模板，在逆转录酶作用下合成互补DNA链，形成RNA：DNA杂交中间体，再由病毒的RNA酶H水解去除RNA，负单链DNA进入细胞核内，进而合成另一条DNA互补链形成双链DNA分子，dsDNA通过整合插入到细胞染色体DNA上形成前病毒（provirus）。前病毒在细胞核内转录出病毒的mRNA和子代病毒RNA。病毒mRNA在细胞质中翻译合成子代病毒的结构和非结构蛋白质。人类免疫缺陷病毒（HIV）和人白血病病毒均属于逆转录病毒，它们基因组复制的基本特征是二倍体的单股正链RNA病毒和在复制时能形成RNA：DNA及DNA中间体。

RNA病毒基因组的构成形式多样，生物合成也各具特点。特别是除双链RNA病毒外，都有中间体的形成。在形成中间体时均需病毒特有的聚合酶（依赖RNA的RNA聚合酶或依赖RNA的DNA聚合酶），这就为设计针对这些特有酶的抗病毒药物提供了理想靶点。在生物合成中，由于RNA病毒形成复制中间体后能高效地大量复制，因此RNA病毒复制周期要快于DNA病毒。

7. DNA嗜肝病毒的复制 这一类病毒很特殊，如人类乙型肝炎病毒（HBV）的基因组复制与上述六类均不相同。①HBV属环状双链DNA（有缺口）病毒，进入肝细胞后，脱去衣壳的HBV DNA进入核内，先形成闭合环状超螺旋DNA；②紧接开始基因转录，转录出四种mRNA并在胞质中翻译出相应的病毒蛋白多肽；③在胞质中病毒多肽组装成病毒衣壳，3.5kb的mRNA被包装进蛋白衣壳；④HBV的复制并未完成，在装配好的病毒衣壳中，它还要依赖3.5kb的mRNA为模板进行逆转录过程，经HBV逆转录酶催化，形成RNA：DNA中间体，得到全长HBV负链DNA；⑤随后，在胞质内的病毒衣壳内HBV RNA被水解，再以长负链HBV DNA为模板，合成正链HBV DNA。此时病毒衣壳正处于获得病毒包膜的成熟过程中，子代病毒基因组形成了部分有缺口的双链环状

DNA（详见肝炎病毒章）。

总之，病毒是一种特殊的生命体，其基因组有如下与众不同的特点：基因组小但差别大、构成简单但结构类型多、遗传信息丰富而且功能多样、基因组复制快速但却容易突变和不遵守遗传学的某些规则等等。

第三节　病毒的增殖

病毒缺少自己增殖所需的酶系统、能量和许多原材料。病毒严格的寄生性决定了它必须在活细胞内进行生命活动和增殖。病毒的增殖不是二分裂方式，它是以其基因组为模板，借助DNA多聚酶或RNA多聚酶以及其他必要因素，经过复杂的生化合成过程，复制出病毒的基因组。此时宿主细胞的生化合成受到抑制，病毒基因组则经过转录、翻译过程，产生大量病毒蛋白质，再经过装配，最终释放出子代病毒。病毒这种以核酸分子为模板进行繁殖的方式称为自我复制（self replication）。

一、病毒的复制周期

（一）复制周期

从病毒进入细胞开始，经基因组复制到子代病毒释出的全过程，称为一个复制周期（replication cycle）。复制周期是个连续过程，可以人为地将其划分成三个阶段（病毒感染并进入宿主细胞、细胞内病毒大分子的生物合成与病毒核衣壳的装配、病毒的成熟和从细胞中的释放）和七个步骤：吸附、穿入、脱壳、生物大分子合成（基因组复制及基因表达）、装配、成熟和释放（图20-6）。

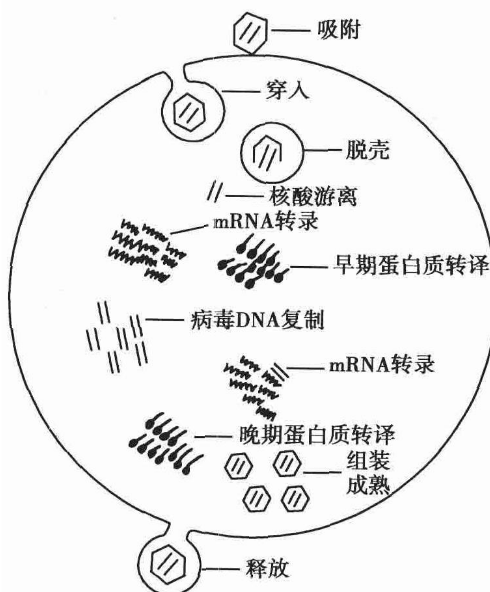


图20-6　病毒复制周期图解

1. 吸附　病毒需先吸附（absorption/attachment）于易感细胞膜上才能与之相互作用启动增殖过程。吸附是病毒体在各种作用力的作用下与细胞接触和识别的过程，是病毒与细胞相互作用的第一步。吸附过程在数分钟到数十分钟内完成，可分为三个步骤完成。首先，病毒颗粒通过非特异性的布朗运动到达细胞表面；然后，病毒表面和细胞膜表面上的静电相互结合，这种结合是非特异可逆的；最后是病毒表面的病毒结合蛋白（VAP）与细胞表面的受体发生不可逆的特异性识别和结合（细胞表面的病毒受体详见第21章）。

2. 穿入　病毒体吸附于易感细胞膜后穿过细胞膜进入细胞的过程称为穿入（penetration）。穿入与吸附不同，是个需要能量的过程。只有生长良好、代谢旺盛的细胞才能让病毒完成穿入过程。病毒体可通过三种方式穿入细胞：①胞饮（viropexis）或内吞作用（endocytosis）方式，病毒体被细胞吞入细胞内的有膜小泡中。这是常见的方式，不需要其他蛋白参与。无包膜病毒一般以此方式穿入，由细胞把病毒核衣壳吞入细胞质中，但也有受体介导的内吞作用，其穿入效率高。②多数有包膜病毒通过病毒包膜与细胞膜或胞质囊泡膜的融合（fusion）方式，病毒核衣壳进入胞质中。融合过程需要病毒包膜上具有的特异性融合蛋白参与，如流感病毒的血凝素可促进两个膜之间连接。并要求特定的环境条件，如适宜的pH值等。③少数无包膜病毒体的直接穿入方式，病毒核衣壳蛋白多肽和细胞膜上的特定蛋白质相互作用，两者的成分和结构发生改变，病毒体直接穿过细胞膜。

3. 脱壳　病毒体进入易感细胞后，必须脱去蛋白衣壳，暴露出病毒的核心，使病毒基因组发挥

指令作用，这一过程称为脱壳（uncoating）。不同病毒的脱壳方式不同，多数病毒在穿入时已在细胞溶酶体酶作用下脱去衣壳，释出病毒核酸。少数病毒（如痘病毒）的脱壳过程复杂，溶酶体酶只能脱去部分衣壳，尚需病毒特有脱壳酶作用使病毒核酸完全释放出来。有些病毒（如流感病毒和痘病毒等）在脱壳前，病毒基因组就开始mRNA的转录。

4. 生物大分子合成　病毒基因组一旦释放到细胞中，即开始病毒的生物合成（biosynthesis）。病毒基因组的复制过程（尤其是RNA病毒）较为复杂，这是分子病毒学研究的主要内容。人和动物的RNA病毒多为单链RNA病毒，绝大多数都在细胞质中进行生物合成，但正黏病毒和个别副黏病毒例外。由于病毒基因组的类型决定了其基因组复制过程的不同，按核酸类型将病毒生物合成分为七大类型：双链DNA病毒、单链DNA病毒、正单链RNA病毒、负单链RNA病毒、双链RNA病毒、反转录病毒和嗜肝DNA病毒（表20-2，图20-6）。

病毒生物大分子合成包含基因组的复制（genome replication）和基因表达（gene expression）两个部分。病毒基因组的复制是指大量子代核酸遗传物质的合成；病毒基因表达（转录和翻译）是指病毒蛋白质的合成。病毒基因组的复制和病毒基因的转录和翻译是密不可分的，两者的过程也有交叉。病毒基因组的多种类型不但决定了基因组复制的复杂性，也决定了mRNA转录和蛋白质合成的多种不同方式。但病毒的大分子合成一般可分为早期、晚期两个阶段。在早期阶段，早期基因开始转录、翻译，产生必须的复制酶、抑制或阻断细胞生物合成和正常代谢的非结构蛋白，为以后基因组复制和结构蛋白的表达做好准备。晚期依据病毒基因组指令，开始病毒核酸的复制，进行病毒基因的转录、翻译以产生病毒结构蛋白。复制的大量子代病毒基因组、转录的大量病毒mRNA以及合成的大量病毒蛋白多肽都会按照不同病毒的要求，按时按地的被转运到宿主细胞特定部位进行下一步子代病毒的装配。

5. 装配　病毒的装配（assembly）是指将生物合成的蛋白和核酸及其已形成的构件，组装成子代核衣壳的过程。病毒的种类不同，其装配的部位也不同，这与病毒复制部位和释放的机制有关。除痘病毒外，DNA病毒的核衣壳都在核内装配，绝大多数RNA病毒在细胞质内装配。病毒的装配过程非常复杂，当生物合成的病毒蛋白和核酸浓度很高时，启动了病毒的装配。装配时涉及蛋白质与蛋白质、蛋白质与核酸的相互作用。蛋白分子先形成结构亚单位，继而组成形态亚单位和衣壳。无包膜病毒和疱疹病毒先形成20面体的空心衣壳，病毒核酸从衣壳的裂缝中进入壳内最后形成核衣壳。螺旋对称病毒核衣壳的装配，则是由先组装好的衣壳围绕病毒基因组进行装配成核衣壳，如流感病毒、反转录病毒等。

6. 成熟　成熟（maturation）是指病毒核衣壳装配好后，病毒发育成为具有感染性的病毒体的阶段。病毒成熟涉及到衣壳蛋白及其内部基因组的结构变化，这需要在高度调控之下，由蛋白酶对一些病毒前体蛋白的切割加工。成熟的标准是：①形态结构完整；②具有成熟颗粒的抗原性；③具有感染性。具有这些特征的无包膜病毒核衣壳即为成熟病毒体。有包膜病毒装配好的核衣壳，尚需获得包膜后才能成熟为完整的病毒体。病毒的成熟为病毒从细胞中的释放做好了准备。病毒的装配和成熟是连续的过程，两者关系密切，但有区别。

7. 释放　成熟的病毒体以不同方式离开宿主细胞的过程称为释放（release）。实质上，病毒的成熟和释放也是密不可分的。有包膜病毒的核衣壳多通过芽生方式,从细胞膜系统（核膜或细胞膜）获得包膜而释放。包膜上的脂类来自细胞，而蛋白则是由病毒自己编码，故具有病毒的抗原性和特异性。有包膜病毒的出芽释放并不直接引起细胞死亡，细胞膜在出芽后可以修复。无包膜病毒在复制和装配过程中严重影响和破坏了细胞，病毒多通过溶解细胞释放出大量子代病毒，如腺病毒和脊髓灰质炎病毒。

（二）病毒的生长曲线

病毒必须在活的细胞中才能进行生命活动。病毒复制周期指病毒从进入细胞到子代病毒产生，病毒复制周期长短与病毒的种类有关，多数病毒复制周期至少要24小时以上。利用细胞培养研究

病毒复制周期时，在病毒感染细胞后不同时期内，分别测定感染性病毒，直到细胞死亡。若以时间为横坐标、病毒数量为纵坐标，即获得病毒复制周期的生长曲线（图20-7）。

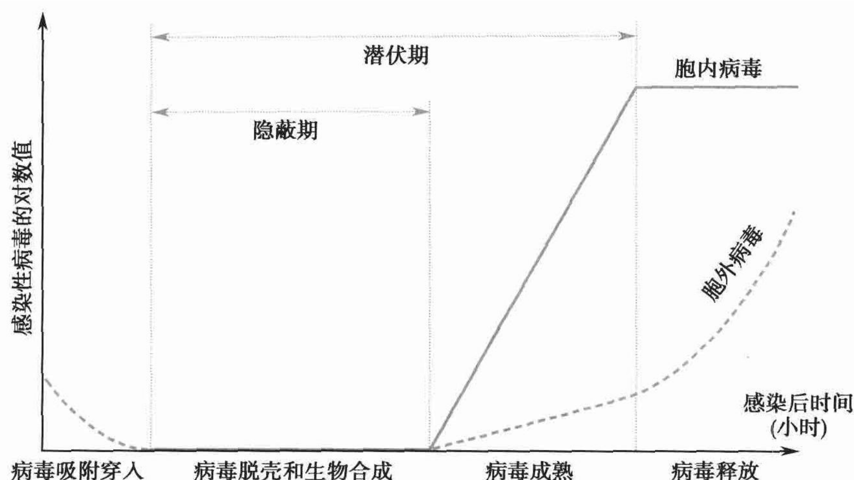


图20-7　病毒生长一步曲线

依据子代病毒体数目的有无及多少，把生长曲线分为三期：①隐蔽期（eclipse），接种病毒后数小时内不能在细胞中测出病毒体的一段时间。隐蔽期发生在病毒感染早期，包括病毒穿入细胞后的脱壳和生物合成阶段；②对数生长期，病毒数量的对数与时间成比例增加，产生大量子代病毒，包括病毒装配和释放，发生在感染后期；③细胞死亡期，大量病毒的繁殖和释放，使宿主细胞的结构和功能受到破坏而死亡。

二、病毒的异常增殖和干扰现象

病毒进入细胞并在细胞内复制的实质是病毒和细胞相互作用的过程，并非所有的病毒成分均能组装成完整的子代病毒，可因病毒自身和宿主细胞两方面的原因导致病毒不能完成复制或异常增殖。此外，若两种或两种以上病毒感染同一细胞时，病毒之间也会发生相互影响而产生异常增殖和干扰现象。

（一）病毒的异常增殖

1. 顿挫感染　能支持病毒完成正常增殖的细胞称为该病毒的容纳细胞（permissive cell）。病毒进入细胞后，因细胞不能为病毒提供复制的必要条件（如酶类、能量及必要成分），而没有完整病毒体的产生，此类细胞称为非容纳细胞（non-permissive cell）。病毒进入非容纳细胞的感染过程称之为顿挫感染（abortive infection，亦称流产感染）。在非容纳细胞中，病毒的成分可以存在，但不能装配和释放出完整的子代病毒。如人腺病毒可在人胚肾细胞（容纳细胞）中正常增殖，但在猴肾细胞（非容纳细胞）中不能正常增殖，发生顿挫感染。

2. 缺陷干扰颗粒　因病毒基因组不完整或发生严重改变，某些病毒不能复制出完整的子代病毒，这类病毒称之为缺陷病毒（defective virus）。缺陷病毒与其他病毒共同感染细胞时，若其他病毒能弥补缺陷病毒不足，使之增殖出完整病毒，则称这种有辅助作用的病毒为辅助病毒（helper virus）。缺陷病毒虽不能复制，但却具有干扰同种成熟病毒体进入细胞的作用，又称为缺陷干扰颗粒（defective interfering particle，DIP）。DIP具有正常病毒形态（衣壳或包膜），内含缺损的病毒基因组。DIP不但能干扰非缺陷病毒的复制，也能影响细胞的生物合成。当DIP和辅助病毒共感染时，可产生成熟病毒，如腺病毒伴随病毒与腺病毒，丁型肝炎病毒与乙型肝炎病毒。此时，腺病毒和乙型肝炎病毒是辅助病毒。DIP具有双重作用，因为它不但干扰同种病毒复制，又从同种成熟病毒基因组那里弥补自己的不足。此外，有动物实验表明，DIP和完整病毒共同感染时，可产生持续性感染。

（二）病毒的干扰现象

当两种病毒同时感染同一细胞时，一种病毒的增殖可抑制另一种病毒的增殖，此现象称为干扰现象（interference）。干扰现象多发生于人和动物病毒之间，有时同种病毒不同型、不同株之间也可发生干扰现象。病毒间干扰现象的机制有多个方面，主要是某一病毒作用于宿主细胞后，诱导其产生抑制病毒复制的蛋白质，称之为干扰素（interferon，IFN）。此外，第一种病毒破坏了宿主细胞表面受体或改变了宿主细胞代谢途径等，均可影响另一种病毒的复制过程。干扰现象不只发生在两种成熟病毒体之间，成熟病毒和缺陷病毒之间也可发生。病毒之间干扰现象能使感染终止、宿主不发病。在使用疫苗预防病毒性疾病时，则应注意合理使用，避免病毒疫苗株之间干扰现象的发生。

第四节 病毒的遗传和变异

作为一个生命体的病毒也有遗传性和变异性。病毒体在外界因素的影响下，通过病毒与细胞、机体之间的相互作用和病毒体之间的相互作用，会发生遗传学方面的改变。最早发现的病毒变异是病毒性状的变异，如毒性、抗原性、抵抗性、依赖性和空斑变异等。传统遗传学就是利用不同表型的病毒株之间遗传物质交换来分析病毒基因的生物学功能。随着分子遗传学的兴起，对病毒的遗传和变异有了更深入的认识。病毒基因组的差异决定了病毒的生物学性状不同，也决定了病毒遗传变异的机制。病毒遗传学常用的一些专业名词应予规范：①病毒株（strain），同一种病毒中的不同分离株或者不同的系；②病毒型别（type），同种病毒的不同血清型，由中和抗体进行免疫学确定的表型；③病毒准株（quasispecies），在一个宿主体内，同一种、同一株病毒群体中的某一个体发生变异，这种群体中的个体差异称病毒准株；④病毒变异体（variant），某病毒株的表型改变，并能稳定存在、在相应宿主细胞中传代与存活，与原来的野毒株表型不同，但不清楚其变异的遗传学基础；⑤病毒突变体/突变株（mutant），与原来的野毒株相比，病毒株的表型改变，已清楚其变异的遗传学基础。病毒突变体的形成按遗传物质有无改变分为遗传和非遗传物质变异两种类型。

一、病毒遗传物质变异的类型

病毒基因组自身碱基序列改变，以及两种以上病毒基因组之间的相互作用（重组和重配）都会使病毒的遗传物质发生改变。

（一）病毒株基因组碱基序列变异引起的表型改变

突变株（mutant）是指病毒基因组碱基序列发生改变，而导致病毒表型性状改变的毒株（表型混合例外）。突变（mutation）可以自然产生，也可以经诱导出现。一般情况下，环境因素对突变只起选择作用而不起诱导作用。病毒在增殖过程中可发生自发突变，突变率为$10^{-4} \sim 10^{-8}$。主要原因是病毒复制速度快，如单个腺病毒在一个细胞内可产生17代约25万个子代病毒DNA分子。其次，由于DNA聚合酶忠实性不高，导致碱基错配发生突变。RNA病毒因不存在复制后的校正机制，其突变率比DNA病毒更高。用核酸测序等分子遗传学方法和表型分析鉴定技术，可以确定出突变株。常见的突变株多具有容易检测和识别的生物学特性，其基因组序列可有点突变、缺失突变和插入突变等。若这些突变发生在基因结构内，则称为基因突变。基因突变产生的突变株可导致特定表型改变，如病毒空斑大小和形态改变、宿主范围、细胞病变及致病性改变。未引起表型改变的基因突变称静默突变（silent mutation）。常见的、有意义的突变株有以下几种：

1. 温度敏感株　温度敏感株（temperature sensitive mutant，ts突变株）在28～35℃条件下可在细胞中增殖，但在36～40℃条件下则不能增殖，这与野毒株（wild type virus）能在20～39.5℃下增殖的特性完全不同。ts株多为减毒株，具有较高的回复突变率，经多次诱变后，能获得稳定的病毒突变株。脊髓灰质炎疫苗就是这种突变株。ts突变株为条件性致死突变株，受温度条件影响而决

定其能否增殖。其原因在于高温下，ts变异株基因编码的蛋白质或酶失去功能而使病毒不能增殖。

2. 宿主范围突变株　宿主范围突变株（host-range mutant，hr突变株）是指病毒基因组改变影响了其对宿主细胞的吸附或相互作用。hr突变株可以感染野生型毒株不能感染的细胞，利用此特性可制备减毒疫苗（如狂犬疫苗）。

3. 耐药突变株　耐药突变株（drug-resistant mutant）多因病毒酶基因突变导致药物作用的靶酶特性改变，病毒对药物产生耐药，能够继续增殖。另外还有酶缺损突变株、空斑大小突变株等。耐药突变株是某一种病毒自身基因组序列上碱基变化引起的病毒突变。

（二）病毒基因组之间相互作用导致的重组与重配

两个病毒基因组之间可以发生相互作用，重组和重配就是发生在两种以上病毒基因组之间的交换组合所产生的突变（图20-8）。

1. 重组　在两种或两种以上有亲缘关系但生物学性状不同的毒株（如同种病毒）感染同一种细胞时，两者相互作用发生核酸水平上的互换和重新组合，形成了兼有两亲代病毒特性的子代病毒。这种两个病毒基因组间核酸序列互换、组合过程称重组（recombination）。重组可以在多种类型的病毒基因组之间发生，如不论基因组是DNA或RNA分子，基因组是否分节段等。重组时病毒核酸分子断裂、交叉连接，引起核酸分子内部重新排列。

2. 重配　在分节段的RNA病毒基因组之间（如流感病毒，轮状病毒等），两个病毒株可通过基因片段的交换使子代基因组发生突变，这种病毒基因组节段间的重新分配过程称之为重配（reassortment）。流感病毒不同株之间基因片段的重新分配，是引起该病毒抗原性改变的主要原因。

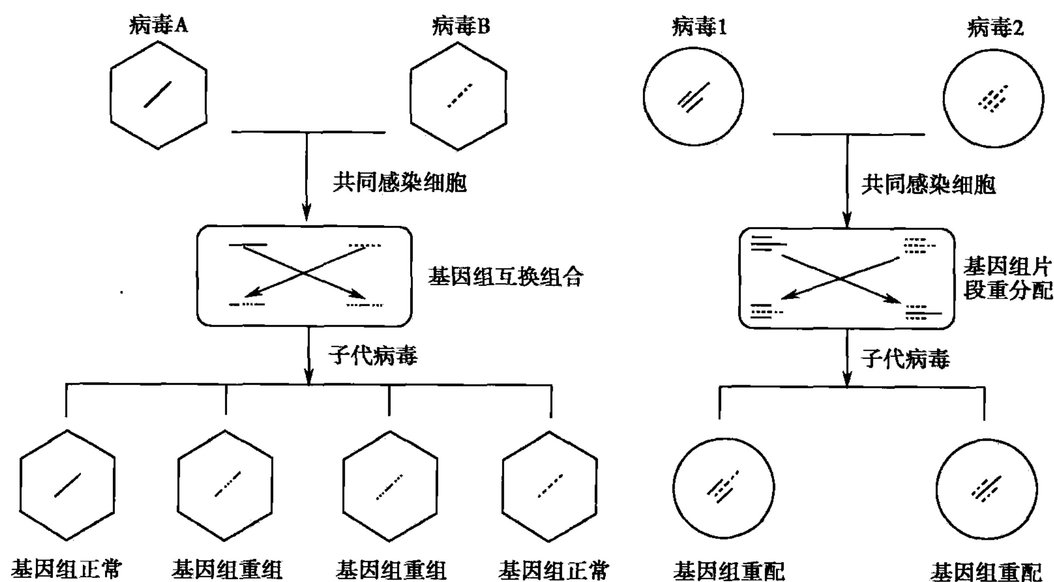


图20-8　病毒基因组间的重组（A）和重配（B）
A. 病毒基因组间的重组；B. RNA病毒组间的重配

（三）病毒基因组与细胞基因组的整合导致的遗传变异

在病毒感染细胞的过程中，有时病毒基因组或基因中某些片段可插入到宿主细胞染色体DNA分子中，把这种病毒基因组与细胞基因组之间的重组过程称为整合（integration）。乳头瘤病毒、腺病毒、疱疹病毒都能将DNA全部或部分插入细胞基因组中去，逆转录病毒也具有此整合特性。肿瘤病毒基因组的整合作用，可引起宿主细胞基因组变异，使细胞发生恶性转化等改变。整合也可导致病毒基因组发生变异，包括基因组部分序列的缺失等。

二、病毒非遗传物质变异的类型

两种病毒同时存在时，它们之间也会发生非遗传物质变异的相互作用，除了前述两种病毒在增殖时的干扰现象外，两种病毒基因产物之间的互补、交换和混合均可导致病毒发生遗传表型的变异。

1. 病毒基因产物的互补 一般情况下，某些病毒不能在细胞培养中产生子代病毒，但当用不同毒株混合感染时，通过两种病毒基因产物之间相互作用则有感染性子代病毒产生，称此现象为互补作用（complementation）。互补作用在缺陷病毒之间可以发生。例如两个缺陷病毒，一个只缺失包膜蛋白基因，另一个只缺失聚合酶基因，两者均不能产生完整子代病毒体。在混合感染时，两者基因产物互为补充，产生了两种子代病毒。当然在正常和缺陷病毒之间也可发生基因产物的互补作用。

2. 病毒的表型混合和表型交换 当两种病毒感染细胞时，各自产生不同的结构蛋白和非结构蛋白产物，在子代病毒装配时，会出现各种产物之间的组合。当出现互相交换衣壳和包膜糖蛋白时，由于混合形成两种镶嵌的衣壳和包膜称之为表型混合。若只是一种病毒的衣壳或包膜包裹了另一种病毒的基因组的组合称表型交换，在肠道病毒中常可见到（图20-9）。

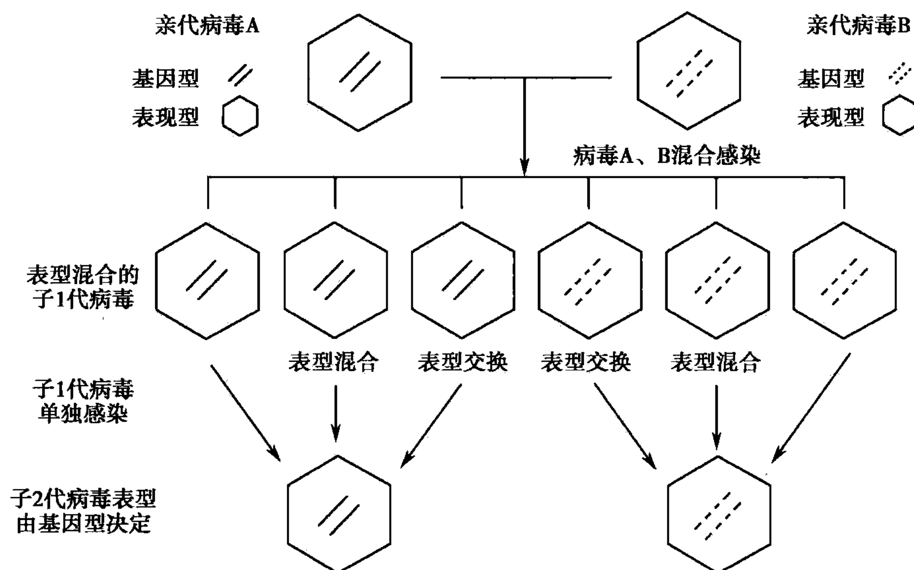


图20-9 病毒的表型混合和表型交换产生示意图

需强调指出，干扰现象、互补作用、表型混合和表型交换并未发生核酸遗传物质的改变，只是在蛋白质水平上的变化而引起一些生物学特性的改变。这种变异是不稳定的，经传代后会失去改变的性状，由基因组决定的遗传性状又恢复原有表型。

三、病毒的分子遗传学研究

分子遗传学兴起于20世纪70年代，病毒基因组一开始就被作为研究材料和模式生物应用。分子病毒学是从分子遗传学研究中受益最多、发展最快的一个领域。当前，对病毒遗传和变异的研究主要在分子水平上进行，并取得了令人瞩目的成就。

1. 病毒基因组序列的测定与分析 研究随着人类基因组计划、微生物基因组计划的实施，作为模式生物的病毒基因组研究也加快了步伐。由于病毒基因组小而且与人类疾病有着密切关系，现今与人类疾病密切相关的病毒基因组序列均被测定。我国学者也已完成了天坛株痘苗病毒、中国甲、乙、丙、戊、庚型肝炎病毒的全基因组测序。主要病毒基因组序列的测定，为破译病毒遗传密码，了解其致病机制和控制病毒病感染奠定了坚实基础。

2. 比较病毒基因组学的研究 采用核酸多态性研究技术，对病毒不同科、种、属和株之间进行

比较分析研究，比较各病毒株之间的序列突变情况，寻找其遗传学上保守序列和多态性，对于了解病毒起源、进化、分类和进行流行病学分析很有帮助。同时也为病毒病的诊断、治疗和疫苗研制提供线索。

3. 病毒基因组结构和功能的研究　与人类基因组计划完成之后实施的后基因组计划（蛋白质组学，功能基因组学等）一样，在获得病毒基因组全序列资料后，必须针对某一种病毒基因组的结构进行详尽研究，包括基因分布、基因构成、调控元件及调控机制等。更重要的是利用基因重组、基因突变（点突变及缺失突变）、基因导入、基因敲除和基因沉默等技术研究病毒基因的功能，进而全面地、精确地了解病毒基因组的功能。

4. 病毒抗原性表位研究　依据基因组核苷酸序列，分析资料，运用生物信息学手段，多肽展示技术，经免疫原性研究，可以确定出保护性抗原位点。也可进行基因分析，寻找抗原的高变区。这些若只在蛋白质水平上进行研究是难以很快得到的。

5. 病毒毒力相关基因研究　利用基因分析、基因表达及其基因产物生物活性研究，可以了解与病毒致病、致畸形、致转化和致癌作用密切的相关基因，通过突变技术可以确定这些基因功能。

6. 病毒蛋白质组的研究　应用二维电泳和质谱等现代技术对病毒感染细胞不同时间的蛋白质组进行研究，将为研究病毒与细胞的相互关系、揭示病毒复制秘密和致病机制提供大量资料。

7. 病毒结构生物学和生物信息学的研究　利用晶体衍射、磁共振和扫描隧道电子显微镜和生物信息学等技术，使人类更加全面地认识病毒的三维结构，便于认识病毒的全貌，设计新的抗病毒药物和疫苗，控制病毒性疾病。

总之，利用病毒分子遗传学技术，对病毒基因组的遗传与变异已展开全方位、多层次研究。如通过分析病毒酶基因变异，对病毒耐药性的研究。针对细胞的一些蛋白多肽与病毒基因组调控元件的结合，了解病毒与细胞的相互作用等。

四、病毒遗传变异的生物学意义

病毒的遗传稳定性保证了病毒物种的稳定和病毒的延续存在。病毒的变异又可以使其适应环境的变化，逃避宿主的免疫监视作用，并得以进化。所以，病毒的遗传变异有着极其重要的生物学意义。在医学病毒学中，研究病毒遗传变异有以下几方面实际意义。

（一）在研究病毒致病机制中的应用

病毒的致病性与其致病基因有直接关系，确定病毒的毒力基因、转化基因和与持续感染相关基因在研究病毒致病性中占有重要位置。找到病毒基因组中遗传学上最保守的核酸序列，进而了解其在病毒复制和致病性中的作用方面具有重要意义。特别值得指出的是某些病毒的基因突变，直接影响着致病作用，如流感病毒和HIV病毒的变异容易造成感染的流行。

（二）在诊断病毒病中的应用

病毒的表型改变和基因组变异严重影响着病毒病的诊断和流行情况的监测。现实要求采用更加特异、敏感的诊断新技术来替代现有的检测方法。其前提是：①必须确定出病毒核酸的高度保守序列，以便应用于核酸杂交、PCR等基因诊断技术；②必须寻找到病毒特异的保守性的抗原表位，以便采用特异的单克隆抗体建立免疫学检测方法。对于高突变率的病毒感染（如流感）的诊断和流行情况的监测及预报，同样需要该病毒遗传变异的基础资料。当前用于病毒病诊断的生物芯片技术，无论基因芯片或是蛋白芯片的设计与制造，都是在充分了解病毒遗传和变异的背景资料基础上进行的。

（三）在治疗病毒病中的应用

只有在充分了解病毒遗传和变异的基础上，才能设计出针对病毒复制、致病过程关键部位、关键酶的靶向药物（如针对HIV逆转录酶和针对HBV聚合酶的药物），才能依据突变改变药物设计方案以解决病毒耐药性问题。当前病毒病的基因治疗也已提上日程，而利用核酸分子药物（反义核酸，核酶和干扰RNA）、自杀基因和基因打靶技术治疗病毒病，其先决条件也是要充分了解病毒基因组

的结构、功能和遗传变异情况。

（四）在预防病毒感染中的应用

疫苗的应用是控制病毒性疾病最有效的办法。虽然利用病毒各种变异株（减毒株）可以制备疫苗预防病毒病，但如何获得安全无毒、无回复突变及免疫效果更好的疫苗一直是学者们的理想目标。基因工程疫苗、多肽疫苗及核酸疫苗的应用，利用病毒作载体制备预防多种病毒性疾病多价疫苗，都是应用遗传变异的原理，通过选择和基因工程技术获得的。

（五）在基因工程中的应用

利用病毒专一性寄生和整合特性，对病毒基因组进行分子遗传学改造，设计出了基因工程病毒载体。当前广泛应用的有反转录病毒载体、痘苗病毒载体、多角体病毒载体、腺病毒及腺伴病毒载体、疱疹病毒载体和脊髓灰质炎病毒载体等。利用病毒载体容量大、转染效率高和繁殖快等优势，可以把目的基因带入到靶细胞中去表达目的产物。当前病毒载体已成功运用于：①在真核细胞基因工程中大量表达外源目的基因获得基因工程产品；②用于人类遗传病，肿瘤及某些代谢性疾病的基因治疗；③用于基因转移工具，进行基因功能、基因调控的理论研究。

（六）在遗传学基础理论研究中的作用

由于病毒体结构简单，基因组单一且容量小，因此最早成为遗传学特别是分子遗传学的研究对象、工具和模式生物。对病毒遗传和变异的研究不但有助于揭示病毒的实质和致病分子机制，而且有利于人类控制病毒疾病的流行和发生，乃至利用病毒为人类造福。

第五节 理化因素对病毒的影响

从细胞中释放出来的病毒体，受到外界物理、化学作用后，会失去感染性，称为灭活（inactivation）。灭活的病毒仍可保留其抗原性、红细胞吸附、血凝及细胞融合等特性。不同病毒对理化因素的敏感性存在差异。理化因素可以通过：①破坏有包膜病毒的包膜（冻融或脂溶剂）；②使病毒蛋白变性（酸、碱、温度等）；③损伤病毒核酸（变性剂、射线等）等途径灭活病毒。了解理化因素对病毒的影响，在分离病毒、疫苗制备和预防病毒感染等方面具有意义。

一、物理因素

1. 温度　多数病毒耐冷不耐热，病毒标本应尽快低温冷冻保存。在干冰温度（－70℃）、超低温冰箱（－86℃）和液氮温度（－196℃）条件下，病毒感染性可保持数月至数年。多数病毒在50～60℃ 30分钟，100℃数秒钟可被灭活。包膜病毒比无包膜病毒更不耐热，37℃以上可迅速灭活。反复冻融也能使病毒灭活。热对病毒灭活作用主要是破坏病毒衣壳蛋白、糖蛋白刺突而阻止病毒吸附，也能破坏某些酶活性而影响病毒的复制。

2. pH　多数病毒在pH5～9范围内稳定，强碱或强酸条件下可被灭活。但有些病毒如肠道病毒在pH2时感染性可保持24小时，包膜病毒在pH8时也可保持稳定，所以可利用其对pH的稳定性来鉴别病毒，也可利用酸性、碱性消毒剂消毒实验室污染器具及用于防疫。

3. 射线　X射线、γ射线和紫外线都能灭活病毒。射线可以使病毒核酸链发生断裂；而紫外线则使病毒基因组中核苷酸结构形式变化或形成胸苷-尿苷二聚体，影响核酸复制。有些病毒如脊髓灰质炎病毒经紫外线灭活后，再用可见光照射，激活酶可去除二聚体，使灭活病毒又复活（光复活photo-reactivation），故不宜用紫外线灭活制备病毒疫苗。

二、化学因素

1. 脂溶剂　乙醚、氯仿、去氧胆酸盐、阴离子去污剂等脂溶剂能使包膜病毒的包膜破坏溶解，病毒失去吸附能力而灭活。因脂溶剂对无包膜病毒（如肠道病毒）几乎无作用，故常用乙醚灭活实

验鉴别病毒有无包膜。

2. 化学消毒剂　除强酸、强碱消毒剂外，酚类、氧化剂、卤类、醇类等对病毒均有灭活作用。常用的有1%～5%苯酚、70%甲醇、乙醇、碘及碘化物、漂白粉等均有效。消毒剂灭活病毒的效果不如细菌，而且不同病毒敏感性不同，无包膜的小病毒抵抗力较强。肝炎病毒对过氧乙酸、次氯酸盐较敏感。由于醛类消毒剂虽破坏病毒感染性却可保持其抗原性，故常用来制备灭活病毒疫苗。

3. 抗生素与中草药　现有抗生素对病毒多无抑制作用。在病毒分离时，加抗生素主要是抑制细菌生长，以利于分离病毒。中草药如板蓝根、大青叶、大黄、贯仲等对病毒增殖有一定抑制作用，值得深入研究。

4. 其他　有些病毒（正黏、疱疹、小核糖核酸病毒）在有Mg^{2+}、Ca^{2+}等盐类存在时，常能提高病毒对热的抵抗力。如用1mol/L $MgSO_4$保存这些病毒可在50℃存活1小时。

第六节　病毒的分类

病毒的分类学成为一个独立系统，由国际病毒分类委员会（International Committee on Taxonomy of Viruses，ICTV）对病毒的分类制定标准和方法，并定期进行修订。

一、病毒分类的目的

病毒分类学的目的在于：①掌握病毒分类学知识，从整体上对病毒的起源、进化、共性和个性特点进行归纳和研究，更好地揭示病毒的遗传特性和本质；②便于掌握病毒的特性和致病特点，有利于对疾病进行诊断、治疗、预防和抗微生物药物的开发，控制病毒感染；③掌握确定未知、新发现或未明确病原微生物的分类原则及技术，快速确定病原，防控突发感染的流行；④了解其亲缘与演化关系，为开发利用微生物资源进而为人类健康服务提供依据。

二、病毒分类的原则

采用多种原则并结合传统等级模式进行分类，把多种特性的集合（形态结构学、理化特性和生物学特性等）和通用等级模式（采用目、科、亚科、属、种）分类结合并命名。病毒分类的原则是：①宿主种类：动物病毒、植物病毒和细菌病毒（噬菌体）；②核酸类型：基因组是DNA或RNA分子；核酸是线状、环状；是否分节段；分子量大小及G+C含量等；③病毒形态与大小：病毒体呈球形、砖形、杆状或多形性；④核衣壳的对称型：立体、螺旋或复合对称；⑤有无病毒包膜及对乙醚等脂溶剂的敏感性；⑥抗原性；⑦病毒在宿主细胞中的增殖部位、过程及生长特性；⑧人类病毒还考虑传播方式、媒介种类、流行病学特征及病理学特点等。

三、病毒的命名

ICTV现在规定病毒不再用拉丁语双命名法命名，而是按照病毒自身特征命名，然后在定位分类单元时加上特定的词尾区别。

依据ICTV分类原则，将病毒分为目、科、亚科、属和种。病毒目、科、属的英文第一个字母大写，英文词均为斜体。种名第1个字母大写，但不用斜体。病毒命名时不使用人名命名，病毒种以下的血清型、基因型和毒株名称由ICTV国际专家小组确定。

1. 病毒种（*Virus species*）　由具有一定的生存环境，结构、性状相似，亲缘关系很近并构成一个复制谱系的一组病毒组成。是病毒分类的基本单元，也是病毒性疾病的临床病原诊断目标。

2. 病毒属（*Virus genera*）　由一些结构、性状相关并亲缘关系相近的病毒成员组成，属名用后缀-*virus*表示，如小RNA病毒科中的肠道病毒属（*enterovirus*）。

3. 病毒亚科（*Virus subfamily*）　由一些共同特性的病毒属组成，并非所有的病毒都有亚科归属，

亚科只用于解决复杂分类时使用，以 *-virinaes* 为词尾。

4. 病毒科（*Virus families*） 由一些结构、性状相关和有亲缘关系的病毒属组成，科名后用后缀 *-viridae* 表示，如 *picornaviridae*（小RNA病毒科）。

5. 病毒目（*Virus order*） 由一些共同特性的病毒科组成，以 *-virales* 为词尾。

四、病毒分类的总轮廓

根据ICTV 2005年出版的《病毒分类：国际病毒分类委员会第八次报告》（Virus Taxonomy：Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses，ISBN 0122499514），当前发现的病毒接近6000多株，目前总体上把病毒分为病毒（Virus）和亚病毒因子（Subviral Agents）两大类群，再根据病毒基因组的构成及复制方式划分。ICTV重视病毒与细胞的相互作用，特别对病毒的复制、转录、翻译和生物合成予以关注。第一次把病毒分为三大目：DNA病毒、RNA病毒、DNA和RNA逆转录病毒（包括DNA病毒中的嗜肝病毒科）。目前，根据ICTV对6000多株病毒的正式分类，其分别归类到3个病毒目、73个病毒科、9个病毒亚科、287个病毒属、1938个病毒种。有些病毒无法归类，放在暂定种（tentative species）未定病毒一组中。

实际应用中以非正式分类术语，将病毒分为三大类七个组，而正式分类层次中的各病毒科则依其基因组特征和复制方式分别归入七个组（表20-3）。同时，亦将亚病毒因子分为卫星病毒、类病毒和朊粒三个类别。

表20-3 依据病毒核酸特性病毒分类

病毒类别与组别	核酸特征	核酸节段	包膜	含人类病毒的病毒科	备 注
一、DNA病毒					
Ⅰ组	dsDNA，线状	不分	有	痘病毒科、疱疹病毒科	
双链DNA病毒	dsDNA，线状		无	腺病毒科	
	dsDNA，环状	不分	无	乳多空病毒科	
Ⅱ组	+/-ssDNA，线状	不分	无	细小病毒科	只1种单链
单链DNA病毒	+/-ssDNA，环状	不分	无	圆环病毒科	
二、RNA病毒					
Ⅲ组 dsRNA病毒	dsRNA，线状	分 10～12	无	呼肠病毒科	
Ⅳ组 +ssRNA病毒	+ssRNA，线状	不分	有	冠状病毒、披膜病毒、黄病毒科	
	+ssRNA，线状	不分	无	星状病毒、杯状病毒、小RNA病毒科及戊肝病毒	
Ⅴ组 -ssRNA病毒	-ssRNA，线状	不分	有	副黏病毒、弹状病毒、丝状病毒和博纳病毒科	
	-ssRNA，线状	2	有	砂粒病毒科	
	-ssRNA，线状	3	有	布尼雅病毒科	
	-ssRNA，线状	6～8	有	正黏病毒科	
三、DNA/RNA 逆转录病毒					
Ⅵ组RNA类病毒	+ssRNA双倍体线	不分	有	逆转录病毒科	含逆转录酶
Ⅶ组DNA类病毒	部分双链，环状	不分	有	嗜肝DNA病毒科	含逆转录酶

五、亚病毒病原体

ICTV把比病毒更小，构成、化学组分和复制过程也不同于常规病毒的传染因子，称为非寻常病毒致病因子或新型感染因子，并被归入亚病毒病原体（Subviral Agents）。亚病毒（subvirus）包括类病毒、卫星病毒。而仅有蛋白质成分的蛋白侵染颗粒（prion）则暂称为朊粒，其分类学上暂归属亚病毒病原体。

1. 卫星病毒　卫星病毒（satellite virus）基因组是小RNA分子，其特点是：①基因组为500～2000个核苷酸的单链RNA分子；②具有自己的蛋白质衣壳，衣壳有的由自身编码，有的则需要靠辅助病毒的蛋白衣壳（这类卫星病毒曾被称为拟病毒virusoid）；③复制必须依靠辅助病毒，复制地点与辅助病毒完全相同；④与辅助病毒基因组之间没有或很少有同源序列；⑤常干扰辅助病毒的增殖。后两点是与缺陷病毒明显不同之处。卫星病毒多数属于植物病毒，少数与噬菌体和动物病毒有关，如人类腺病毒卫星病毒。

2. 类病毒　类病毒（viroid）是很小的具有感染性的RNA分子。其特点是：①仅由200～400个核苷酸组成，具有棒状二级结构的单链环状RNA分子；②病毒RNA在细胞核内复制，主要依赖宿主细胞RNA聚合酶Ⅱ进行RNA合成，不需要辅助病毒参与复制；③类病毒不含蛋白质，无包膜和衣壳，不编码蛋白质。类病毒均为植物病毒，目前认为人类的丁型肝炎病毒（HDV）具有部分卫星病毒和类病毒的特征，是一种特殊的嵌合RNA分子。

3. 朊粒　朊粒（prion）结构仅由一种耐蛋白酶K的蛋白分子组成，具有传染性，prion名称来自proteinaceous infectious particles，译为蛋白侵染颗粒（曾译为朊病毒），简称朊粒。目前朊粒在分类学上仍划归病毒，由于它仅含朊粒蛋白（PrP），不少学者认为不宜列入病毒范畴。业已发现，动物和人类中枢神经系统慢性进行性传染病与朊粒感染有关（详见朊粒章节）。

六、常见的人类病毒

本节从分类学角度对人类病毒和实验室模型研究常用的动物病毒予以介绍，旨在了解人类病毒的全貌。各病毒科、属和种的生物学特性和分子生物学特性，详见有关各章节。表20-4列出了重要的与人类疾病相关的病毒科。

（一）DNA病毒

1. 双链DNA病毒

（1）痘病毒科（*Poxviridae*）：痘病毒是脊椎动物病毒中体积最大，结构最复杂的病毒。病毒体呈砖形，在宿主细胞质内复制。正痘病毒属内有牛痘病毒等，代表种为痘苗病毒（Vaccinia virus）；软疣痘病毒属代表种为传染性软疣病毒（Molluscum contagiosum virus）。

（2）疱疹病毒科（*Herpesviridae*）：疱疹病毒科是一大DNA病毒科，病毒体呈球形，在宿主细胞核内复制，成熟时以出芽方式释放。可分为α、β、γ三个亚科。α亚科：单纯疱疹病毒属（*Simplexvirus*），代表种人疱疹病毒1型（Human herpesvirus 1，HHV-1）；人疱疹病毒2型（Human herpesvirus 2，HHV-2）。水痘病毒属（*Varicellavirus*），代表种人疱疹病毒3型（human herpesvirus 3，HHV-3）；本亚科的猿猴病毒对人有致病性。β亚科：巨细胞病毒属（*Cytomegalovirus*），代表种人疱疹病毒5型（HHV-5）。玫瑰疹病毒属（*Roseolovirus*），代表种人疱疹病毒6型（HHV-6）；嗜CD_4^+ T淋巴细胞；还有人疱疹病毒7型（human herpesvirus 7，HHV-7），也嗜CD_4^+ T淋巴细胞。γ亚科：淋巴隐伏病毒属（*Lymphocryptovirus*），代表种为人疱疹病毒4型，即EB病毒，此外还有人疱疹病毒8型（human herpesvirus 8，HHV-8），可引起卡波西肉瘤。

（3）腺病毒科（*Adenoviridae*）：包括哺乳动物腺病毒和禽类腺病毒两个属。病毒体呈球形，在细胞核内复制。人类腺病毒血清型超过100多个，人类腺病毒感染可累及呼吸道、肠、脑、肾，淋巴结等，

其感染有迁延、持续的倾向。免疫力下降时，易于复发。哺乳动物腺病毒属（*Mastadenovirus*）代表种为人腺病毒2型（Human adenovirus 2）。

（4）乳多空病毒科（*Papovaviridae*）：含16个病毒属，对人类具有致病力的有：多瘤病毒属包括BK病毒、JC病毒和猴病毒SV40。这3种病毒都能引起进行性多灶性白脑病，而BK病毒更多见

表20-4 重要的人类病毒分类表

核酸	病毒科	病毒大小（nm）	包膜	衣壳对称型	衣壳装配	基因组类型	大小（kb）	人类有关病毒
DNA病毒								
Ⅰ双链DNA病毒	乳多空病毒	40或55	无	立体	细胞核	环状dsDNA	5或8	HPV
	腺病毒	80～110	无	立体	细胞核	dsDNA	36～38	人腺病毒
	疱疹病毒	120～200	有	立体	细胞核	dsDNA	120～225	HSV，EBV
	痘病毒	230×300	有，复杂	复合	细胞质	dsDNA	130～375	痘苗病毒
Ⅱ单链DNA病毒	细小DNA病毒	18～26	无	立体	细胞核	s sDNA	5.6	B19
RNA病毒								
Ⅲ双链RNA病毒	呼肠病毒	60～80	无	未知/复合	细胞质	dsRNA分节	16～27	轮状病毒
Ⅳ正单链RNA病毒	小核糖核酸病毒	28～30	无	立体	细胞质	+ssRNA	7～9	肠道病毒
	披膜病毒	50～70	有	立体	细胞质	+ssRNA	9.7～11.8	风疹病毒
	黄病毒	45～60	有	立体	细胞质	+ssRNA	9～10	HCV，乙脑病毒
	杯状病毒	30～39	无	立体	细胞质	+ssRNA	7.4～7.7	诺沃病毒
	冠状病毒	80～220	有	立体螺旋	细胞质	+ssRNA	20～30	冠状病毒
	戊型肝炎	32～34	无	立体	细胞质	+ssRNA	7.5	戊型肝炎病毒
Ⅴ负单链RNA病毒	正黏病毒	80～120	有	螺旋	细胞质	-ssRNA分节段	10～13.6	流感病毒
	副黏病毒	100～300	有	螺旋	细胞质	-ssRNA	16～20	麻疹病毒
	布尼雅病毒	80～120	有	螺旋	细胞质	-ssRNA分节段	11～21	出血热病毒
	砂粒病毒	50～300	有	未知/复合	细胞质	-ssRNA分节段	10～14	拉沙热病毒
	弹状病毒	80×130	有	螺旋	细胞质	-ssRNA	13～16	狂犬病病毒
	丝状病毒	80×130～14 000		螺旋	细胞质	-ssRNA	19.1	马堡、埃博拉病毒
DNA和RNA逆转录病毒								
Ⅵ组RNA类病毒	逆转录病毒	80～110	有，复杂	立体	细胞质	+ssRNA双倍体	7～11	HIV
Ⅶ组DNA类病毒	嗜肝病毒科	42	有	立体	细胞核与细胞质	dsDNA部分环状	3.2	HBV
亚病毒病原体								
	类病毒	?	无	?	?	RNA	0.2～0.3	植物病毒
	卫星病毒	?	无	?	?	RNA	0.5～2	腺伴病毒
	朊粒	11×165	无	?	细胞质	无核酸	?	CJD病原

+：正链；－：负链；ss单链；ds：双链；？：未知/未定

于免疫缺陷人群，引起肾脏感染和轻度呼吸道感染。SV40病毒常用于实验病毒致瘤模型研究。乳头瘤病毒属中的人类乳头状瘤病毒超过100型别，其中某些型引起皮肤黏膜疣、尿生殖道良性湿疣，而某些型与外生殖道、口腔及咽喉肿瘤有关。

2. 单链DNA病毒

（1）细小病毒科（*Parvoviridae*）：是最小的病毒，病毒体呈球形。与人类有关的有两个属：①红病毒属（*Erythrovirus*），代表种为B19病毒（B19 virus），B19病毒感染并杀死骨髓中晚期血细胞的祖细胞，使镰状贫血患者发生再生障碍性危象；②依赖病毒属（*Dependovirus*），代表种为腺伴病毒2型（adeno-associated virus 2，AAV2）。腺伴病毒常潜伏于人扁桃体，有5个血清型。如无腺病毒辅助，不能单立在细胞内复制，致病性尚未确认。

（2）圆环病毒科（*Circoviridae*）：与人类有关的有圆环病毒属的TTV病毒。

（二）RNA病毒

1. 双链RNA病毒

呼肠病毒科（*Reoviridae*）：本科病毒体呈球形，基因组为双链RNA，并分成10～12节段为其突出的特征。本病毒科含有四个属，对人类致病的有轮状病毒属（*Rotavirus*），除人轮状病毒（Human rotavirus）能引起婴幼儿和成人病毒性腹泻外，其他呼肠病毒虽能从人呼吸道或消化道排出，但它们与疾病的关系尚未确定。

2. 单负链RNA病毒

（1）副黏病毒科（*Paramyxoviridae*）：病毒体呈球形，基因组不分节，包膜上有突起即3种蛋白质：即血凝素、神经氨酸酶和融合蛋白。本科病毒对人类具有较高的致病性，分四个属。①副黏病毒属（*Paramyxovirus*），代表种为人副流感病毒1型（Human parainfluenza virus1）；②麻疹病毒属（*Morbillivirus*），代表种为麻疹病毒（Measles virus）；③腮腺炎病毒属（*Rubulavirus*），代表种为腮腺炎病毒（Mumps virus）；④肺病毒属（*Pneumovirus*），代表种为人类呼吸道合胞病毒（Human respiratory syncytial virus）。

（2）弹状病毒科（*Rhabdoviridae*）：病毒体呈子弹状，成熟于宿主细胞质膜，包膜含有丰富的脂质，表面有突起，基因组呈螺旋柱状。狂犬病病毒属，代表种为狂犬病病毒（Rabies virus），狂犬病病毒感染人类和许多哺乳动物。水疱病毒属的水疱性口炎病毒偶尔感染人类，主要感染牛、马、猪。

（3）丝状病毒科（*Filoviridae*）：病毒体呈丝状或多形性，有两个属：①马尔堡病毒属（*Marburg virus*），代表种为马尔堡病毒（marburg virus）；②埃博拉病毒属（*Ebolavirus*），代表种为埃博拉病毒（Ebola virus）。两者均在非洲引起出血热，病死率极高。

（4）正黏病毒科（*Orthomyxoviridae*）：病毒体呈球形，直径为80～120nm，新分离时呈丝状或多形性。核衣壳呈螺旋状，外有包膜，来自宿主细胞质膜。基因组分节，甲、乙型流感病毒（*Influenza virus A*、*B*）为8节，丙型（*Influenza virus C*）为7节。包膜上有刺突，即血凝素和神经氨酸酶两种糖蛋白。流感病毒引起人类、禽类或动物流行性感冒。

（5）布尼亚病毒科（*Bunyaviridae*）：布尼亚病毒有100种以上，多数为虫媒病毒，但也有一些不经昆虫传播。病毒体呈球形，有包膜。–ssRNA基因组分3节。与人类有关的有四个病毒属：正布尼病毒属，代表种为布尼安姆韦拉病毒；汉坦病毒属（*Hantavirus*），代表种为汉坦病毒（Hantaanvirus），是我国流行的肾病综合征出血热的病原；内罗病毒属和白蛉热病毒属。

（6）砂粒病毒科（*Arenaviridae*）：只有一个砂粒病毒属（*Arenavirus*），代表种为淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒（Lymphocytic choriomeningitis virus）。病毒体有包膜，其上有无数小粒，状如砂粒，故名。单负链RNA基因组为双环，分2节。淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒对鼠类致病，常为持续感染，可作为病毒持续感染的动物模型，对人类偶尔致病。另有Lassa病毒、Machupo病毒、Junin病毒和Guanarito病毒对人亦有致病性，但少见。Lassa病毒可感染人类导致出血热，病死率高。

（7）博尔纳病毒科（*Bornaviridae*）：只有一个博尔纳病毒属（*Bornavirus*），代表种为博尔纳

病病毒（Borna disease virus，BDV）。病毒有严格的嗜神经性，在感染细胞内呈非溶细胞性复制。引起的博尔纳病（Borna disease，BD）是一种以脑实质、脑膜的炎性细胞浸润为主的病理改变，疾病特异性的抗原在边缘系统神经元中积聚为特征、主要由免疫介导的行为异常神经综合征。

3. 单正链RNA病毒

（1）小RNA病毒科（*Picornaviridae*）：病毒体呈球形，是RNA病毒中最小的一种，无包膜，在宿主细胞质内复制。与人类相关的有：肠道病毒属（*Enterovirus*），代表种为脊髓灰质炎病毒1型（Poliovirus 1）。鼻病毒属（*Rhinovirus*），代表种为人鼻病毒1A型（Human rhinovirus 1A）；该属中人类鼻病毒多达110型；肝病毒属（*Hepatovirus*），只有甲型肝炎病毒（Hepatitis A virus）一个成员；心病毒属（*Cardiovirus*），代表种为脑心肌炎病毒（Encephalomyocarditisvirus）；口蹄疫病毒属对猪、牛等家畜致病；嵴病毒属代表种爱知病毒（Aichivirus），与食用贝类胃肠炎有关。

（2）杯状病毒科（*Caliciviridae*）：病毒呈球形，无包膜，表面有32个杯样凹陷故名。对人致病的有诺沃病毒属（Norovirus），代表种诺沃病毒（曾称诺沃克因子），引起人类胃肠炎。

（3）星状病毒科（*Astroviridae*）：新设的病毒科，病毒体呈球形，无包膜，负染后病毒体表面电子显微镜下形状如星形。该科中的哺乳动物星状病毒属，代表种为人星状病毒1型（Human astrovirus 1），可引起腹泻。

（4）冠状病毒科（*Coronaviridae*）：病毒体外形如皇冠，有时呈不规则形。包膜上有许多珠状突起，包膜中没有基质蛋白。衣壳呈螺旋对称。分四个属，宿主多为禽类和各种动物。本科中只有人冠状病毒对人类致病，一般仅引起上呼吸道感染，类似感冒；变种SARS-CoV曾引起人类严重急性呼吸综合征（SARS）。

（5）黄病毒科（*Flaviviridae*）：本科病毒体呈球形，有包膜。基因组为一个长的开放阅读框架，编码一个能加工成所有病毒编码蛋白的多聚蛋白。黄病毒科的许多成员是严重危害人类健康的病原体，如蚊传播的黄热病毒、登革病毒、日本脑炎病毒、墨立谷脑炎病毒、圣路易脑炎病毒、西尼罗热病毒；以及我国东北地区流行的森林脑炎病毒（壁虱传播）。黄病毒科与人类相关的属有：黄病毒属（*Flavivirus*），代表种为黄热病毒（Yellow fever virus）。肝炎病毒属（*Hepacivirus*），代表种为丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV）。还包括近年才确认的庚型肝炎病毒（hepatitis G virus，HGV）。

（6）披膜病毒科（*Togaviridae*）：本科病毒呈球形，有包膜。其中的甲病毒属包括多种虫媒病毒，该属病毒中对人类有致病力的有东方马脑炎病毒、西方马脑炎病毒、委内瑞拉马脑炎病毒。风疹病毒属中唯一成员为风疹病毒（Rubella virus），对人类致病。

（7）戊型肝炎病毒科（*Hepaviridae*）：依据基因组结构新增设单列的病毒科，但尚未正式定名。病毒呈球形，无包膜，基因组含有3个ORF。下设肝炎病毒属（*Hepavirus*），代表种为人戊型肝炎病毒（Hepatitis E virus，HEV）。

（三）DNA与RNA逆转录病毒

1. 嗜肝DNA病毒科（*Hepadnaviridae*）　本病毒科的病毒体呈球形，基因组较小。基因组为双链不完全环状DNA，一条长链为封闭的环形，另一条短链有缺口。核酸复制过程中有逆转录步骤，需要病毒编码的逆转录酶。该科与人类相关有两个属。①正嗜肝DNA病毒属（*Orthohepadnavirus*），代表种为乙型肝炎病毒（Hepatitis B virus，HBV）；本科各种病毒具有类似的病毒体结构，均有嗜肝性，并可导致慢性感染，并与原发性肝细胞癌发生有关；②禽嗜肝DNA病毒属，代表种鸭乙型肝炎病毒（Duck hepatitis virus）。

2. 逆转录病毒科（*Retroviridae*）　有包膜，病毒体呈球形，基因组为二倍体的+ssRNA，全基因组逆转录为双链DNA后整合于宿主细胞染色体DNA，称为前病毒。病毒核酸复制过程中需要病毒编码的逆转录酶。本科是一大科，与人类有关的有3个病毒属：①丁型逆转录病毒属，即人T细胞反转录病毒（HTLV-1），引起成人T细胞白血病和毛细胞淋巴瘤；②慢病毒属（*Lentivirus*），人

类免疫缺陷病毒1型（Human immunodeficiency virus 1，HIV-1），引起艾滋病；③泡沫病毒属，人泡沫病毒（Human spumavirus）致病性尚未确认。

展 望

病毒是体积微小、结构简单、遗传物质单一并只能严格在敏感活细胞中复制的非细胞型微生物。在自然界已知有6000多株病毒，其中有许多与人类疾病和健康密切相关。随着科学技术的发展，一些新的病毒不断被发现并引起全人类密切关注。类病毒和蛋白质侵染颗粒（亦称朊粒）的出现，动摇了原来的病毒概念，乃至重新启动了蛋白质是否能够复制、它是否是最早的生命大分子这一重大课题的研究。

研究病毒的增殖是揭示病毒与细胞相互作用的重要途径。病毒增殖具有超级寄生、自我复制增殖和遗传性变异三大特征。不同类型的DNA病毒和RNA病毒的生物合成过程各异，研究病毒的复制过程不但能揭示病毒增殖规律，还有助于设计抗病毒药物（如酶抑制剂），了解病毒和细胞的基因调控以及病毒的致病性，从而为控制病毒感染和利用病毒为人类谋福利打下基础。

病毒基因组具有相对简单、基因数目少和复制形式多样的特点，加之病毒严格寄生，受细胞影响大，故病毒较其他微生物更具有遗传不稳定性即变异性。病毒的变异性在病毒演化、分类及致病机制等理论研究领域具有重要意义。在应用方面，可依照人类需要，利用病毒基因工程研制出众多的基因工程药物、诊断试剂，创造出更有效的新型疫苗和病毒载体，为防治人类疾病做出贡献。

临床病毒学中，常以临床医学、病理学和流行病学（如传播途径）的某些特征作为病毒分类依据，此种分类方法虽然不规范和不够严谨，但有利于临床诊断、治疗和预防病毒病（表20-5，6，7，8），国内外许多临床医师及流行病学工作者仍在沿用。

在防治病毒性流行病时，也常根据危害程度不同，把病毒进行分类。在我国按照危害程度分为四类：①一类病毒，指能够引起人类或者动物非常严重疾病的病毒，以及我国尚未发现或者已经宣布消灭的烈性病毒。如天花、埃博拉、马堡和拉萨热等病死率高的病毒；②二类病毒，指能够引起人类或者动物严重疾病，而且比较容易直接或者间接在人与人、动物与人、动物与动物间传播的病毒，如HIV、SARS-CoV、乙型脑炎、高致病性流感病毒等病毒；③三类病毒，指能够引起人类或者动物疾病，但一般情况下对人、动物或者环境不构成严重危害，传播风险有限，实验室感染后很少引起严重疾病，并且具备有效治疗和预防措施的病毒。如肝炎（甲、乙、丙、丁、戊）病毒、腺病毒、鼻病毒、季节性流感病毒和肠道病毒等；④四类病毒，指在通常情况下不会引起人类或者动物疾病的病毒。如实验室常见的鼠白血病病毒（MLV）等。

表20-5 按病毒传播方式把人类病毒分类

病毒组	特征	举例
虫媒病毒（Arboviruses）	借助昆虫（蚊、蜱、螨等）叮咬传播	布尼雅病毒科、黄病毒、披盖病毒及部分呼肠病毒
肠道病毒（Enteric viruses）	经胃肠道感染人体，可引起/不引起胃肠道系统症状，亦可引起全身感染	小RNA病毒、杯状病毒、星状病毒、轮状病毒和部分腺病毒
呼吸道病毒（Respiratory viruses）	一般引起上呼吸道疾病有些引起肺部感染	正黏病毒，副黏病毒、鼻病毒，某些腺病毒和冠状病毒
性传播病毒（Sexually transmitted viruses）	通过性接触传播，可引起局部或全身感染	HPV、HIV某些疱疹病毒和某些肝炎病毒
血液传播病毒（Blood transmitted viruses）	通过皮肤、黏膜损伤、输血、注射、器官移植、叮咬等	HBV，HCV，HIV，HCMV等病毒

表20-6 人类主要出血热病毒及其所致疾病

病毒科	病毒属	病毒	传播媒介	疾病	分布
布尼亚病毒科	汉坦病毒属	汉坦病毒	啮齿类	肾综合征出血热	亚、美、欧、非各洲
	内罗病毒属	克里米亚-刚果出血热病毒	蜱	克里米亚-刚果（新疆）出血热	中国新疆等
	白蛉病毒属	里夫特谷热病毒	蚊	里夫特谷热	非洲
披膜病毒科	甲病毒属	基孔贡亚病毒	蚊	出血热	东南非
黄病毒科	黄病毒属	登革病毒	蚊	登革出血热	东南亚，南美
		黄热病病毒	蚊	黄热病	中南美、非洲
		Kyasanur病毒	蜱	科萨努尔森林热	东北亚
丝状病毒科	丝状病毒属	Ebola病毒	未定	埃博拉出血热	非洲
		Marburg病毒	未定	马堡出血热	非洲、欧洲
砂粒病毒科	砂粒病毒属	Lassa病毒	啮齿类	Lassa出血热	西非
		Sabia病毒	啮齿类	巴西出血热	南美洲
		Junin病毒	啮齿类	阿根廷出血热	南美洲
		Machupo病毒	啮齿类	玻利维亚出血热	南美洲
		Guamarino病毒	啮齿类	委内瑞拉出血热	南美洲

表20-7 人类神经病毒及其所致疾病

病毒科	病毒属	病毒	传播途径	疾病
疱疹病毒科	单纯疱疹病毒属	单纯疱疹病毒	接触	单纯疱疹病毒脑炎
		水痘-带状疱疹病毒	呼吸道	带状疱疹，潜伏神经节
	巨细胞病毒属	巨细胞病毒	垂直，接触	脑炎，巨细胞包涵体病
	玫瑰疹病毒属	HHV-6，HHV-7	唾液	脑炎，疲劳综合征
乳多空病毒科	多瘤病毒属	JC病毒		进行性多灶性白质脑病
细小病毒科	红病毒属	B19病毒		急性神经痛
小RNA病毒科	肠道病毒属	脊髓灰质炎病毒	粪-口	脊髓灰质炎
		新肠道病毒71	接触	神经系统损害
副黏病毒科	麻疹病毒属	麻疹病毒	呼吸道	脑炎、SSPE脑病
	腮腺炎病毒属	腮腺炎病毒	呼吸道	病毒脑膜脑炎
披膜病毒科	风疹病毒属	风疹病毒	呼吸道	风疹病毒脑炎
	甲病毒属	虫媒病毒	叮咬	虫媒病毒性脑炎
弹状病毒科	狂犬病病毒属	狂犬病病毒	咬伤	狂犬病（狂犬病病毒脑炎）
黄病毒科	黄病毒属	日本脑炎病毒	蚊	乙型脑炎
		森林脑炎病毒	蜱	森林脑炎
博尔纳病毒科	博尔纳病毒属	博尔纳病毒	接触	神经精神行为性疾病
逆转录病毒科	慢病毒属	人类免疫缺陷病毒	经血、性	艾滋病脑病，周围神经病
	丁型逆转录病毒	嗜人T淋巴细胞病毒	接触，输血	脊髓病，下肢瘫痪
亚病毒因子	朊病毒	朊病毒	消化道	CJD、海绵样脑病、震颤

表20-8　人类肝炎病毒（Hepatitis viruses）及其所致疾病

病毒科	病毒属	病　毒	传播途径	疾　病
小RNA病毒科	肝病毒属	人甲型肝炎病毒	粪-口	甲型肝炎
嗜肝DNA病毒科	正嗜肝DNA病毒属	人乙型肝炎病毒	经体液，垂直传播	乙型肝炎，肝癌
黄病毒科	肝病毒属	人丙型肝炎病毒	经体液，垂直传播经血液	丙型肝炎，肝癌
	肝病毒属	人庚型肝炎病毒		庚型肝炎
未定病毒	未定	人丁型肝炎病毒	经体液	丁型肝炎
戊型肝炎病毒科*	肝病毒属	人戊型肝炎病毒	粪-口	戊型肝炎
圆环病毒科	圆环病毒属	输血传播肝炎病毒TTV	经体液，粪-口	输血传播肝炎

* ICTV已将其单列为科，科名待定

（楚雍烈）

第二十一章 病毒的感染与致病机制

人类病毒是指能够感染人体或对人类有致病作用的病毒。病毒侵入机体，并在体内细胞中增殖的过程称为病毒感染（viral infection），其实质是病毒与机体、病毒与易感细胞之间的相互作用过程。病毒感染常因病毒种类、机体状态不同而产生轻重不一的损伤或导致病毒性疾病（viral disease）。病毒性疾病与病毒感染是两个相关但又不同的概念。病毒引起人机体感染和疾病的能力称为病毒的致病作用，病毒致病是由侵入宿主和感染细胞开始的，其致病机制不仅取决于病毒自身的致病作用，而且还与机体的状态和两者间的相互作用密切相关。病毒的致病作用表现在机体的整体和细胞两个层次上。

Viruses can cause disease after they break through the natural protective barriers of the body, and evade immune control, and either kill cells of an important tissue or trigger a destructive immune and inflammatory response. Viruses can spread. Their routes of entry and exit from the host have allowed a study of the epidemiology of infections. The outcome of a viral infection is determined by the nature of the virus-host interaction and the host' s response to the infection. The outcome of a viral infection follows one of several patterns: (a) inapparent infection; (b) apparent infection, disease syndrome, virus eradication and recovery; (c) latency; (d) carrier status; (e) neoplasia; (f) death. In order to persist and evolve in nature, viruses need a large population of susceptible hosts and an efficient means of spread between these hosts. Viruses are transmitted to the individual by many different routs. Transmission between mother and offspring is called vertical transmission. Person to person transmission that is not from mother to offspring is called horizontal transmission.

Viral pathogenesis is the process of disease production following infection. It may lead to clinical or subclinical (asymptomatic) disease. Viral disease is much less common than inapparent infection, and is associated with a particular target organ for a specific virus.

Types of viral infections include: (A) Inapparent viral infections, (B) Apparent infection. The apparent infections include acute viral infections, and persistent infections. There are three types in the persistent infection: (a) Latent infection, (b) chronic infection, (c) Slow viral infection.

There are two aspects correlate to viral pathogenesis. Viral aspects of pathogenesis include the viral surface receptors (virion receptors interact with cellular receptor sites to initiate infection) and viral virulence. Cellular aspects of pathogenesis include the cellular receptor sites and cell tropism.

The are six main effects of viral infection on the cell: (a) Cytolytic infection (cytopathic effects, CPE, and cytocidal effect, and death), (b) Steady state infection (nonlytic infection, no apparent morphologic change), (c) Cell apoptosis, (d) Viral genome integration into chromosome DNA, (e) Cell transformation, (f) Inclusion body formation.

Pathogenesis in the infected patient involves: (a) Infection of the target organ, tissue and cells. There are morphologic and functional changes and damages in the infected target tissues. (b) Immunopathogenesis: the antiviral immunity can be major cause of the pathologic manifestations. The

immune response can be as a host defense, and as a contributing cause of certain diseases. Both cytotoxic T cell and antibodies play a role in immunopathogenisis. (c) Viruses can infect the immune system cells, and cause the structural and functional damages. The damages of immune cell result in immunosuppressive state, and/or autoimmune diseases.

第一节　病毒的传播方式和感染类型

一、病毒感染

病毒必须自外环境进入人体细胞后才能产生感染。自然外环境并不适宜病毒的生存，病毒需要克服环境压力（热、干燥和紫外线等），保证在宿主间的持续传播。病毒的另一种生存和感染方式是通过媒介宿主再感染人类。病毒必须通过一定的途径进入机体，还必须采用特定的方式穿过机体的皮肤、黏膜屏障感染细胞。

（一）病毒感染的来源

引起机体感染的病毒来自外环境，传染源主要是患者、病毒携带者（重要的传染源）和患病及携带病毒的动物或中间宿主。医源性感染也是不能忽略的来源。在诊断、治疗或预防过程中，由于所用血液、血制品和器械等消毒不严格也可造成病毒感染。

（二）病毒感染途径

病毒感染途径是指病毒接触机体并入侵宿主的部位（如经呼吸道、消化道），由病毒固有的生物学特性所决定。不同病毒通过不同途径入侵机体，在相对适应的系统和靶器官内寄居、生长、繁殖并引起疾病。一种病毒可通过多种途径感染机体，而不同病毒可经同一途径侵入机体，但通常每种病毒都有相对固定的主要感染途径，这与病毒的生物学特性和侵入部位的微环境有关。了解病毒感染途径，在鉴别诊断、指导临床用药和疾病预防方面具有重要意义。

（三）病毒感染传播方式

病毒感染传播方式指病毒从来源（患者或动物宿主）如何到达机体的行为过程。流行病学把病毒传播分为水平传播和垂直传播两种方式。

1. 水平传播　水平传播（horizontal transmission）指病毒在人群中不同个体人-人之间（呼吸、粪-口等）的传播和动物-人之间（媒介或直接接触）的传播。病毒主要通过呼吸道、消化道、皮肤、黏膜和血液等途径进入人体，产生水平感染（horizontal infection）。水平传播的病毒感染率高，可迅速繁殖和在体内播散。

2. 垂直传播　垂直传播（vertical transmission）指病毒从宿主的亲代向子代的传播方式。主要发生在胎儿期、分娩过程和出生后的哺乳期。存在于母体的病毒可以经过胎盘-胎儿、产道-新生儿和母-婴哺乳途径，由亲代传播给子代。主要是孕妇发生病毒血症，或病毒与血细胞紧密结合造成子代的感染，而由逆转录病毒感染生殖细胞的直接传播的方式很少见。垂直传播方式产生的感染称垂直感染（vertical infection），垂直传播的病毒多在宿主产生较长时间的感染。已知有十多种病毒可引起垂直感染，其中以HBV、CMV、HIV和风疹病毒为多见。垂直感染可致死胎、流产、早产或先天畸形，子代也可没有任何症状或成为病毒携带者。

病毒侵入机体的方式和途径决定感染的发生和发展。机体与外界相通的皮肤、口腔、鼻咽腔及泌尿生殖道等是病毒入侵机体的门户，病毒主要通过皮肤和黏膜（呼吸道、消化道或泌尿生殖道）传播。但在特定条件下，如输血、注射、器官移植和昆虫叮咬等，病毒可直接进入血循环而感染机体（表21-1）。

（四）病毒在体内的播散

病毒侵入机体后，有些病毒只在入侵部位感染细胞、增殖并产生病变，称为局部感染（local infection）或表面感染（superficial infection）。当机体防御能力降低或病毒的毒力过强时，病毒可由

表21-1 人类病毒的感染途径和传播方式

感染途径	传播方式与媒介	病毒种类
呼吸道	气溶胶、飞沫、痰、唾液或皮屑的吸入	正黏病毒（流感病毒）、副黏病毒、小RNA病毒（鼻病毒）及水痘病毒等
消化道	污染的水或食物	脊髓灰质炎病毒等肠道病毒、轮状病毒、HAV及HEV
眼及泌尿生殖道	接触（直接或间接）、游泳、性交	HIV、HSV-1、HSV-2、CMV、HPV、腺病毒及肠道病毒70型等
破损皮肤	吸血昆虫、狂犬	脑炎病毒、狂犬病病毒等
血液	输血、注射、器官移植	HIV、HBV、HCV、CMV
经胎盘或产道	宫内、分娩产道、哺乳	风疹病毒、HIV、HBV、CMV等

入侵部位向全身播散。体内全身播散方式：①直接接触播散，经过细胞-细胞接触播散；②经血流播散，有些病毒从入侵部位直接进入血液，或通过接种、输血、注射、动物叮咬和外伤进入血液向全身播散；③经神经系统播散，病毒和感染部位的神经元接触，发生感染并向远离入侵部位或全身播散。病毒在体内全身播散造成全身感染（systemic infection）。病毒进入机体血液系统称病毒血症（viremia）。经血行播散的病毒首先在入侵机体的局部及其所属淋巴结增殖，随后进入静脉引起第一次病毒血症。此时如果病毒未受到中和抗体等的作用，则在肝脏、脾脏细胞内进一步增殖，再进入动脉引起第二次病毒血症，播散全身到达靶器官并引起感染，各种病毒因其最终的靶器官不同而表现出不同的临床症状。

二、病毒感染类型

病毒感染宿主活细胞后，若不能够完成复制周期、没有感染性子代病毒产生，称为病毒的非增殖性感染（又称为顿挫感染），病毒顿挫感染有时可导致细胞转化。多数病毒感染机体后产生病毒的增殖性感染，机体表现出不同的临床类型。依据有无症状，可分为隐性感染和显性感染。

（一）隐性感染

病毒进入机体后，不引起临床症状的感染称为隐性病毒感染（inapparent viral infection），又称为亚临床感染（subclinical infection）。此时病毒在体内不能大量增殖，对细胞和组织造成的损伤不明显。有时病毒虽进入人体，但不能到达靶细胞，也不表现出明显临床症状。其原因可能与病毒的种类不同、毒力较弱和机体免疫力较强有关。病毒隐性感染十分常见，容易造成漏诊和误诊。隐性感染者虽不出现临床症状，但病毒仍可在体内增殖并向外界排出，成为重要的传染源。这种隐性感染者也称病毒携带者（viral carrier），所以隐性感染在流行病学上具有十分重要的意义。相当部分的隐性感染者也可获得对该病毒的免疫力，从而终止感染。脊髓灰质炎病毒和流行性乙型脑炎病毒的大多数感染者为隐性感染，发病率只占感染者的0.1%。

（二）显性感染

病毒显性感染（apparent infection）指病毒进入机体、感染靶细胞后，大量增殖造成细胞结构和功能损伤，致使机体出现临床症状的感染类型。病毒显性感染按症状出现早晚和持续时间长短又分急性感染和持续性感染（图21-1）。

1. 急性病毒感染　在急性病毒感染（acute viral infection）中，病毒入侵机体后，潜伏期短、发病急，病程数日或数周，恢复后机体内不再有病毒并常获得特异性免疫。急性感染又称病原消灭型感染，机体产生的特异性抗体可作为感染证据，例如普通和流行性感冒等。

2. 持续性病毒感染　在持续性病毒感染（persistent viral infection）中，病毒在机体内可持续存在数月、数年甚至数十年。临床表现可出现症状，也可不出现症状。体内病毒长期存在成为长期带毒者，是重要传染源，也可引起慢性进行性疾病。病毒持续感染是病毒感染的重要类型，其形成原因有病毒和机体两方面因素，是两者相互作用的结果：①机体免疫力低下，无力清除病毒；②病毒

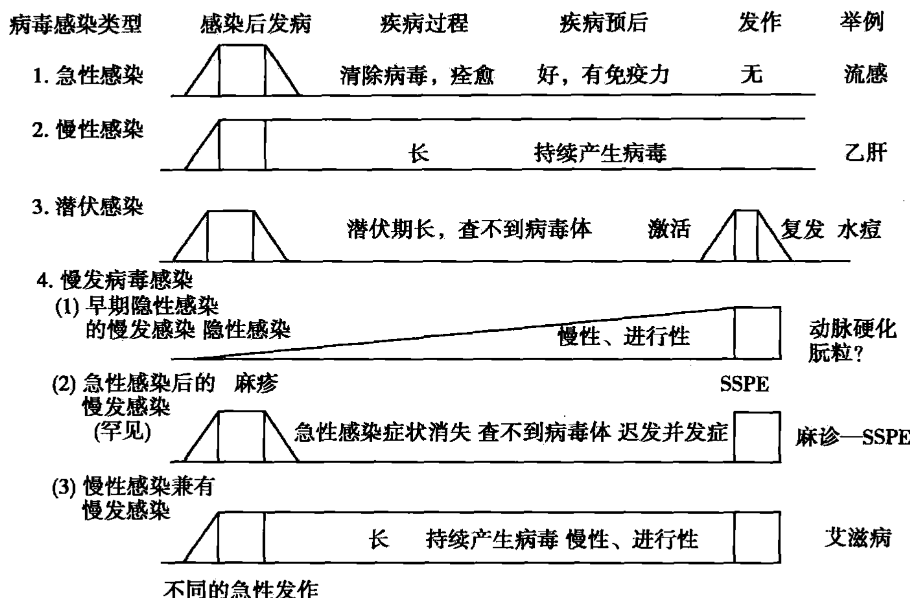


图21-1　显性感染过程不同表现示意图

抗原性弱，机体难以产生免疫应答予以清除；③病毒存在于受保护部位或病毒发生突变，逃避宿主免疫作用；④病毒基因组整合于宿主基因组中，与细胞长期共存。病毒持续感染随病毒不同其致病机制也有差异，临床表现多种多样，依据患者疾病过程和病毒在细胞或实验动物中的表现，大致分为：潜伏性感染、慢性感染和慢发病毒感染三种情况。

（1）潜伏性感染：潜伏性感染（latent infection）指经急性或隐性感染后，病毒基因组潜伏在特定组织或细胞内，但并不能产生有感染性的病毒体，此时用常规方法不能分离出病毒，在某些条件下病毒可被激活而急性发作，并可检测出病毒的存在。例如单纯疱疹病毒感染后，在三叉神经节中潜伏，此时机体无症状也无病毒排出，以后由于机体受环境因素影响，劳累或免疫功能低下时，潜伏的病毒被激活后，沿感觉神经到达皮肤，发生唇部单纯疱疹。

（2）慢性感染：慢性感染（chronic infection）指经显性或隐性感染后，病毒持续存在于机体血液或组织中，病毒不断排出体外，经血液传播。病程长达数月或数十年，患者临床症状轻微或为无症状病毒携带者。如乙型肝炎病毒、巨细胞病毒和EB病毒等常形成慢性感染。

（3）慢发病毒感染：慢发病毒感染（slow virus infection）指经显性或隐性感染后，病毒有很长的潜伏期，此时机体无症状也分离不出病毒，但以后出现慢性、进行性疾病，常导致死亡，此类感染又称迟发病毒感染。慢发病毒感染有些是由常见的寻常病毒引起，如人免疫缺陷病毒引起的AIDS和麻疹缺陷病毒引起的亚急性硬化性脑炎（SSPE）。近来发现还有一些病因未知的疾病如多发性硬化症、动脉硬化症和糖尿病等也可能与非寻常病毒引起的慢发病毒感染有关。

病毒感染的不同类型是病毒感染在机体整体水平上的表现，其感染的过程和结局取决于病毒和机体间的相互作用，无论是局部或全身感染、显性或隐性感染、急性或持续性感染均是如此。病毒的毒力（种类、数量、嗜细胞组织特性等）、机体遗传特性、天然和获得性免疫应答均可影响病毒感染的类型、进程和结局。

第二节　病毒的致病机制

病毒侵入机体后，首先进入易感细胞并在细胞中增殖，进而对宿主产生致病作用。病毒能否感染机体以及能否引起疾病，取决于病毒致病性和宿主免疫力两方面因素。病毒致病性是指某一病毒感染特定宿主并引起疾病的固有特性；病毒的毒力则是反映其引起临床症状和病理变化的强弱，有

定量和比较的含义。如流感病毒可感染人群，具有致病性，但人群中个体症状轻重程度不一。流感病毒流行株和减毒疫苗株相比，毒力明显有强弱不同，前者引起疾病，后者并不引起疾病。病毒的致病作用是从入侵细胞开始，并扩散到多数细胞，最终导致组织器官的损伤和功能障碍。显然，病毒的致病作用表现在细胞和机体两个水平上。

一、病毒感染对宿主细胞的致病作用

病毒具有严格的细胞内寄生特性，其致病的基础是病毒在细胞中增殖而导致宿主细胞结构受损和功能障碍。病毒对细胞的致病作用又包含来自病毒的直接损伤和机体免疫病理反应两个方面的因素。对细胞水平病毒感染的分析，主要通过病毒接种培养细胞后，观察细胞形态学、新陈代谢功能和抗原性变化，也可对机体病理组织进行超微结构检查。采用分子生物学技术，对病毒基因组的改变和在宿主细胞中存在状态进行研究，为从分子水平上阐明病毒与细胞相互作用及病毒致病机制提供了可能。

细胞被病毒感染后，由于病毒和宿主细胞相互作用的结果不同，其表现形式多样。除进入非容纳细胞后产生顿挫感染而终止感染过程外，在容纳细胞中可表现为：溶细胞作用、稳定状态感染、细胞凋亡、细胞增殖和转化、病毒基因组的整合及包涵体的形成。

（一）溶细胞作用

病毒在宿主细胞内增殖成熟后，短时间释放大量子代病毒造成细胞破坏而死亡，这种作用称病毒的杀细胞效应（cytocidal effect）。溶细胞作用主要见于无包膜、杀伤性强的病毒，如脊髓灰质炎病毒、腺病毒。具有溶细胞作用的病毒多数引起急性感染。

溶细胞作用的主要机制：①阻断细胞大分子合成，由病毒编码早期蛋白（酶类等），通过各种途径抑制、阻断（或降解）细胞核酸或蛋白质合成；②病毒感染对细胞器的损伤，包括细胞核、内质网、线粒体等，常使细胞出现浑浊、肿胀、圆缩等改变。体外组织培养时，病毒感染的细胞可见到细胞变圆、聚集、融合、裂解或脱落等现象，称病毒的致细胞病变作用（cytopathic effect，CPE），一般体外CPE的产生与体内感染产生溶细胞作用相一致；③细胞溶酶体结构和通透性的改变，病毒感染除造成宿主细胞的细胞骨架、各种细胞器的损伤外，特别是由于溶酶体膜通透性增加或破坏，溶酶体中的酶类可致细胞自溶，产生溶细胞感染（cytolytic infection）；④病毒抗原成分也可插入细胞膜表面，引起抗原改变，造成细胞融合，或引起免疫性细胞损伤；⑤病毒产生的毒性蛋白对细胞的毒性作用，如腺病毒表面的蛋白纤维突起，具有毒性作用。

（二）稳定状态感染

有些病毒（多为有包膜病毒）在宿主细胞内增殖过程中，对细胞代谢、溶酶体膜影响不大，由于以出芽方式释放病毒，其过程缓慢、病变较轻、细胞短时间内也不会引起细胞溶解和死亡，称为病毒的稳定状态感染（steady state infection）。病毒的稳定状态感染常造成细胞膜成分改变和细胞膜受体的破坏，如麻疹病毒、副流感病毒感染细胞的膜成分发生改变，导致与邻近细胞融合，利于病毒扩散。又如流感病毒抗原出现在细胞膜上后，除引起抗原决定簇改变外，还因有病毒的血凝素存在，使细胞具有吸附红细胞的功能。稳定状态感染细胞，经病毒长期增殖、多次释放后，细胞最终仍要死亡。

（三）细胞凋亡

细胞凋亡（cell apoptosis）是由细胞基因自身指令发生的一种生物学过程。在一定条件下，细胞受到诱导因子作用，激发的信号传到细胞核内，激活细胞凋亡基因，从而导致细胞出现细胞膜鼓泡、细胞核浓缩并可形成凋亡小体。由于染色体DNA降解，在凝胶电泳时出现阶梯式DNA条带。研究证实，有些病毒感染细胞后（如腺病毒、HPV和HIV等），病毒可直接或由病毒编码的蛋白因子的间接作用，诱发细胞凋亡。病毒感染诱发宿主细胞凋亡的作用引起学者关注，对其机制的了解有助于减少病毒感染对细胞的损伤。

（四）病毒基因组的整合

分子遗传学研究发现，病毒的遗传物质核酸可以插入到宿主细胞染色体DNA中，称为整合（integration）。病毒基因组整合有两种方式：一种是全基因组整合，如逆转录病毒复制过程中前病毒DNA整合入细胞DNA中。另一种是称失常式整合（aberration），即病毒基因组中部分基因或DNA片段随机整合入细胞DNA中，这多见于DNA病毒。整合的病毒DNA可随细胞分裂而带入子代细胞中。病毒基因组的整合必然造成宿主细胞基因组的损伤，病毒若在细胞中增殖（如HIV），其损害与一般病毒致细胞病理作用相似。有些病毒DNA整合后并无病毒的增殖现象。此时整合的病毒DNA片段，可造成细胞染色体整合处基因的失活和附近基因的激活等现象。有些整合病毒基因也可表达、编码出对细胞有特殊作用的蛋白（如SV_{40}病毒的T蛋白引起细胞转化）。

（五）细胞的增生与转化

有少数病毒感染细胞后不但不抑制宿主细胞DNA的合成，反而促进细胞DNA的合成，如体外细胞培养证实，SV_{40}病毒可促进细胞增殖，并使细胞形态发生变化，失去细胞间接触性抑制而成堆生长。这些细胞生物学行为的改变，称为细胞转化（cell transformation）。人类病毒中的HSV、CMV、EBV、HPV和腺病毒中某些型可转化体外培养细胞，这些具有细胞转化能力的病毒和病毒的致瘤潜能有密切联系，因部分转化细胞在动物实验中可以变成肿瘤细胞（参见肿瘤病毒章节）。病毒转化细胞多具有旺盛的生长力，易于连续传代，细胞表面可出现新抗原，而且多数细胞染色体中整合有病毒DNA。

（六）包涵体的形成

细胞被病毒感染后，在细胞浆或细胞核内出现光镜下可见的斑块状结构，称为包涵体（inclusion body）。病毒包涵体由病毒颗粒或未装配的病毒成分组成，也可以是病毒增殖留下的细胞反应痕迹。包涵体破坏细胞的正常结构和功能，有时引起细胞死亡。

二、病毒感染对机体的致病作用

（一）病毒对组织器官的亲嗜性与组织器官的损伤

1. 病毒性感染具有宿主种属特异性和组织嗜性　病毒侵入机体感染细胞具有一定的选择性，绝大多数病毒只能够侵入、感染有限种类的细胞并能在其中产生子代病毒，称之为病毒对组织的亲嗜性（tropism）。病毒的亲嗜性表现在种属特异性（宿主范围）和细胞、组织和器官嗜性（组织向性）两个方面。种属特异性决定了感染宿主范围和流行程度，如犬类不能感染麻疹病毒，而人类不能感染犬瘟病毒，人类乙型肝炎病毒（HBV）只对人和黑猩猩具有感染性。组织和器官嗜性决定了感染的定位及疾病的症状，如脊髓灰质炎病毒主要破坏人类的脊髓前角运动神经细胞，流感病毒感染呼吸道黏膜细胞，肝炎病毒对肝脏组织有亲嗜性等。

2. 病毒亲嗜性的基础　病毒亲嗜性主要是组织器官的细胞表面有病毒受体及细胞具有病毒增殖的条件。细胞膜上的病毒受体病毒的亲嗜性占有重要地位，受体的特异性就决定了病毒的宿主范围和病毒亲嗜性，公认病毒亲嗜性主要是由病毒细胞受体决定。细胞具有病毒增殖的条件包括：①细胞内有无调节病毒转录的细胞蛋白；②是否含有某些特定切割病毒蛋白酶等因素；③宿主细胞内是否含有病毒需要的特异性反式激活蛋白等因素。

3. 病毒亲嗜性的作用　病毒的细胞、组织和器官亲嗜性造成了病毒对特定组织器官的损伤，也是形成临床上不同系统疾病的原因。病毒特异性的抗体可以和病毒表面受体发生反应，并使病毒失去与细胞受体相互作用的能力。pH、酶和宿主体内的生化因子也能使其丧失活性。阐明病毒的细胞、组织、器官、宿主亲嗜性有助于阐明病毒的致病机制和进行病毒的防控。

（二）免疫病理损伤

病毒具有很强的抗原性，感染细胞后还会出现自身抗原，从而诱发机体的免疫应答，机体免疫应答除具有有利的一面外，所产生的变态反应和炎症反应是主要的病理反应。

1. 体液免疫病理作用 许多病毒（特别是有包膜病毒）能诱发细胞表面出现新抗原，当特异抗体与这些抗原结合后，在补体参与下引起细胞的破坏。例如，登革热病毒在体内与相应抗体在红细胞和血小板表面结合，激活补体，导致红细胞和血小板破坏，出现出血和休克综合征。有些病毒抗原与相应抗体结合形成免疫复合物，可长期存在于血液中。当这种免疫复合物沉积在某些器官组织的膜表面时，激活补体引起Ⅲ型变态反应，造成局部损伤和炎症。如沉积在肾毛细血管基底膜所致肾损伤（蛋白尿、血尿），沉积在关节滑膜上所致关节炎等。

2. 细胞免疫病理作用 细胞免疫在其发挥抗病毒感染同时，特异性细胞毒性T细胞（CTL）也对病毒感染细胞（出现了新抗原）造成损伤。此外，病毒蛋白因与宿主细胞蛋白之间存在共同抗原性而导致自身免疫应答。对700种病毒的病毒蛋白进行序列分析和单克隆抗体分析表明，约4%与宿主蛋白有共同抗原决定簇。例如：麻疹病毒引起的脑炎及乙肝病毒引起的慢性肝炎，就有自身免疫病的因素。

总之，在病毒感染早期，病毒所致细胞损伤，活性及毒性物质的释放等能引起机体的炎症反应使机体产生全身症状。感染后期由免疫复合物、补体活化、CD_4^+ T细胞介导的复杂反应和感染细胞溶解等，又引起机体局部组织器官严重损伤和炎症。由于某些病毒可引起免疫病理损伤，所以临床上应慎用免疫功能增强剂治疗这类疾病。

（三）病毒对免疫系统的致病作用

病毒感染可对机体的免疫系统产生影响，包括：

1. 病毒感染引起免疫抑制 业已发现，许多病毒感染可引起机体免疫应答降低或暂时性免疫抑制。如麻疹病毒感染患儿对结核菌素皮肤试验应答低下或阳性转为阴性。这种免疫抑制使得病毒性疾病加重、持续，并可能使疾病进程复杂化。免疫应答低下可能与病毒直接侵犯免疫细胞有关，如麻疹、EB病毒和风疹病毒等。病毒人侵免疫细胞后，不仅影响机体免疫功能，使病毒难以清除，而且病毒存在于这些细胞中受到保护，可逃避抗体、补体等作用，并随免疫细胞播散至全身。

2. 病毒对免疫活性细胞的杀伤 与上述病毒不同，人类免疫缺陷病毒（HIV）侵犯巨噬细胞和T辅助细胞（$CD4^+$）后，由于HIV对$CD4^+$T细胞具有强的亲和性和杀伤性，使其数量大量减少，细胞免疫功能低下，因此，艾滋病患者极易发生机会性感染或并发肿瘤。

3. 病毒感染引起自身免疫病 病毒感染免疫系统后可致免疫应答功能紊乱，主要表现为失去对自身与非自身抗原的识别功能。病毒感染细胞后，除了前述病毒新抗原与细胞抗原结合，改变细胞膜表面结构成为“非己物质”外，也有可能使正常情况下隐蔽的抗原暴露或释放出来，导致机体对这些细胞产生免疫应答，免疫细胞和免疫因子对这些靶细胞发挥作用，从而发生自身免疫病。

三、病毒和机体的相互作用

（一）病毒和机体的相互作用实质

病毒和机体的相互作用贯穿病毒感染和病毒复制的全过程，其作用结果对双方都有决定性的影响：病毒方面涉及能否发生病毒感染、病毒可否增殖及病毒遗传和变异等许多问题。宿主方面涉及抗感染防御机制能否抵御感染、清除病毒，机体能否产生特定的免疫力、是否发生疾病和产生哪一种感染结局等。

病毒和机体的相互作用是病毒学研究的根本出发点和永恒主题。病毒和机体的相互作用发生在细胞和整体两个层面上，表21-2综合了病毒和机体相互作用的方式和结局。从病毒感染的全过程看，该领域又可分为三个阶段：① 病毒从外界人侵机体；② 病毒感染靶细胞并产生疾病；③ 病毒的排出和体外传播。这些研究涉及病毒学、细胞和分子生物学、分子遗传学、生物化学、免疫学、传染病学和流行病学等多个学科。

表21-2　病毒和机体的相互作用

作用双方	病　　毒	机　　体
	病毒的毒力致病作用	免疫系统防御能力及遗传因素
一、整体水平相互作用		
	患者、宿主动物、医源性	天然、获得性免疫（非特异、特异）
	病毒感染方式：	体液、细胞免疫
	水平传播、垂直传播	机体生理状态：年龄、精神、营养和环境等
	战胜非特异免疫	
	突破皮肤、黏膜屏障作用	皮肤、黏膜屏障
	传播途径相对稳定	局部免疫力，IgA等
	黏附力、靶细胞受体	局部微环境条件：温度、pH等
	战胜机体免疫防御	体液免疫，抗体、补体
	感染淋巴、巨噬细胞	细胞免疫，NK细胞等
	体内播散　血液、神经等	容纳细胞　非容纳细胞顿挫感染
	细胞-细胞，细胞内携带	体液免疫的中和、结合和阻止复制
	有组织、器官亲嗜性	免疫细胞吞噬、溶解、调理
	抵抗细胞内免疫力	ADCC作用
	复制周期	机体细胞内免疫力
	损伤细胞、组织和器官	
	特别是损伤免疫系统	抗体和补体的裂解细胞作用，抑制病毒复制
	抑制免疫系统功能	
	杀伤免疫细胞	免疫防御作用，干扰素等
	引起抗原的改变	体液和细胞免疫病理损伤（有害作用）
二、细胞水平相互作用		
	病毒在细胞内复制	宿主细胞内的反应
	溶细胞作用：抑制或阻断细胞大分子合成；破坏细胞结构、骨架等，病毒毒性蛋白作用	溶酶体酶的释放，细胞自溶作用 细胞圆缩、病理改变（CPE） 释放的隐蔽抗原发生自身免疫性疾病
	稳定状态感染：膜抗原及膜受体改变	细胞融合、破裂，免疫细胞作用 新抗原引发自身免疫性疾病
	病毒蛋白因子可诱导细胞凋亡	细胞凋亡限制病毒复制
	病毒基因组的整合作用	细胞遗传稳定和DNA修复机制
	细胞转化和增殖	细胞自稳、免疫监视和清除作用
	包涵体的形成，影响结构和功能	细胞内的保护与清除作用

1. 病毒受体

（1）病毒受体（viral receptor）是病毒细胞受体的简称，指位于宿主细胞表面，能够被病毒特异识别、与病毒吸附蛋白结合并介导病毒侵入细胞，启动病毒感染的特殊分子复合物。病毒受体参与病毒的识别、结合、相互作用和感染细胞过程，是细胞表面的一个特殊结构位点。病毒受体有其正常生理功能，一般有双重功能：一方面介导病毒进入细胞，触发病毒增殖；另一方面受体分子对于细胞又有正常的生理功能，如可以是细胞上的重要分化抗原、激素受体或神经递质的结合位点等。

（2）病毒受体的分子本质：病毒受体是细胞膜的正常成分，由宿主基因组编码、表达和调控。已发现的病毒受体可划分为糖蛋白、糖脂、蛋白聚糖和脂类等4种类型，其中大多数为糖蛋白，少数糖脂或唾液酸寡糖，它们往往嵌于膜脂质双层之间（表21-3）。病毒受体是单体也可以是多分子复合体，一个受体位点由几个受体单位组成，后者又由几个亚单位组成。

表21-3 病毒受体分子及其分布

病 毒	细胞抗原或分子	分 布
无包膜病毒		
呼肠病毒	β-肾上腺激素受体	神经元、淋巴细胞
脑心肌炎病毒	糖卟啉	红细胞
鼻病毒	90×10^3 糖蛋白	呼吸道黏膜细胞
腺病毒	42×10^3 糖蛋白	黏膜细胞
多瘤病毒	唾液酸寡糖	多种细胞
脊髓灰质炎病毒	硫酸乙酰肝素	上皮、神经细胞
包膜病毒		
辛德毕斯病毒	儿茶酚胺类神经递质	骨骼肌细胞
EB病毒	补体受体2，Ⅰ类抗原	B淋巴细胞
人类免疫缺陷病毒	CD4抗原	T淋巴细胞
狂犬病病毒	乙酰胆碱受体	骨骼肌细胞
水疱性口炎病毒	磷脂或脑脂	成纤维细胞
甲型流感病毒	唾液酸半乳糖	呼吸道黏膜细胞，红细胞
仙台病毒	神经节苷脂	多种细胞
痘苗病毒	上皮生长因子受体	L细胞
单纯疱疹病毒	硫酸乙酰肝素	多种细胞
丙型肝炎病毒	CD81等	肝细胞
SARS-CoV	ACE2，CD209L	呼吸道黏膜细胞
HBV	硫酸乙酰肝素蛋白聚糖?	肝细胞，PBMC等
麻疹病毒	CD46，CD150	多种细胞

（3）病毒受体的特性：病毒受体具有特异性、高度亲和性、受体位点的有限性、靶细胞部位的有限性以及生物学效应。①特异性指病毒只能与其识别的受体相结合才能造成宿主细胞的感染。特异性主要表现在种系特异性、组织特异性、病毒特异性和致病作用特异性四个方面；②亲和性反映病毒受体与病毒结合的稳定程度。与受体的高度亲和是病毒侵入细胞进行复制的前提；③受体有限性与靶细胞部位的局限性表明细胞病毒受体数目有限，约为10^4个/细胞～10^5个/细胞；④生物学效应包括病毒结构改变和信号转导两方面。病毒与受体间的相互作用导致病毒结构改变，利于和易感细胞膜融合引发病毒感染；诱导细胞内相应的信号转导，导致细胞因子分泌，细胞凋亡、激发免疫应答或产生免疫抑制等生物学效应，甚至还可诱导异常免疫应答而导致机体的病理损伤。

（4）病毒受体类型：据其复杂程度分为：①单一受体型：指不借助其他蛋白质的协助，受体本身就可介导病毒的识别和吸附。如鼻病毒和多数柯萨奇病毒受体是单一型的细胞黏附分子Ⅰ；②需要辅助受体的病毒受体型：多数病毒除了依赖易感细胞膜上的主要病毒受体外，还需要其他细胞表面分子协助进行病毒的识别和结合，此类协助识别的表面分子称为辅助受体（coreceptor）。如HIV的CD44病毒受体需要细胞的趋化因子辅助受体协助发挥作用。病毒受体具有特异性（主要病毒受体）和非特异性（次要病毒受体）之分。病毒与受体的结合是一个多步骤过程，可能涉及不同的病毒吸附蛋白及多个靶细胞受体。

2. 病毒与受体结合的结构

（1）病毒吸附蛋白：病毒体表面有病毒吸附蛋白（viral attachment protein，VAP），病毒是通过其特定结构VAP吸附到易感细胞表面的病毒受体上并发生相互作用的。VAP位于病毒体表面，如包膜病毒的刺突糖蛋白或无包膜病毒的衣壳蛋白等。这种特异性的结合决定了病毒组织亲嗜性。不同病毒的病毒吸附蛋白不同，有各自不同的易感细胞和病毒受体。目前已发现了许多与细胞病毒受

体结合的VAP和部分VAP的结构域，如HIV结合受体的VAP是gp120；流感病毒包膜上血凝素可与多种细胞上唾液酸受体分子结合（表21-4）。

表21-4　常见病毒的VAP与其相应的细胞病毒受体

病毒	VAP	宿主细胞病毒受体
EBV	gp330	补体受体2，Ⅰ类抗原，CD21
脊髓灰质炎病毒	VP1～VP3	硫酸乙酰肝素，特异的膜受体
ECHO病毒	VP1～VP3	连接素
鼻病毒	VP1～VP3	90×10^3糖蛋白，黏附因子1
甲型流感病毒	HA	唾液酰寡糖苷
麻疹病毒	HA	CD46，CD150
狂犬病毒	gpG	乙酰胆碱受体
HIV	gp120	CD4和辅助受体

（2）VAP与病毒受体的相互作用：VAP通过与易感细胞表面的特殊受体分子结合，启动病毒感染细胞过程。病毒通过VAP直接同宿主细胞受体相互作用，也可以通过调节分子的介导间接结合细胞受体。病毒与受体的结合是一个多步骤过程，可以涉及不同的病毒吸附蛋白及多个靶细胞受体。病毒与受体结合的结果是病毒内化（或胞吞）进入感染靶细胞。病毒（如HIV）VAP可以先与第1个病毒受体结合引起细胞或病毒本身发生变化，再与第2个病毒受体结合从而有利于病毒内化，感染靶细胞。影响病毒和其受体结合的因素有：①细胞的状态、生长周期、受体质与量和表达调控；②病毒的滴度、病毒抑制剂；③环境因素、温度、pH和离子强度等。最近发现，受体的特定形状和构象的结合能力才是决定病毒能否感染细胞的关键。

（3）病毒受体和VAP的功能及研究意义：病毒受体和VAP相互作用所表现的生物学功能涉及感染细胞、组织嗜性和宿主范围，病毒复制周期的吸附、传入和脱壳过程，决定和始动病毒感染以及疾病的发生和流行。没有病毒受体就没有病毒的感染和复制。病毒受体已成为分子病毒学研究的活跃领域，成为防控病毒性疾病的关注焦点。原因在于：①有助于揭示病毒与宿主细胞的相互关系，阐明病毒感染时的宿主范围、组织或细胞嗜性；②从分子水平阐明病毒的吸附机制和传播方式，弄清病毒融合和进入过程、复制动力学及其对宿主细胞的影响，揭示病毒致病分子机制；③有利于病毒感染过程与免疫系统的相互作用的研究，阐明病毒感染的细胞病理和组织病理；④为疫苗的生产提供依据，针对病毒受体的特异性免疫，为受体疫苗开辟新途径，预防病毒性疾病；⑤指导设计、开发靶向性强的抗病毒药物；⑥依据病毒受体可对病毒进行分类。

（二）病毒与细胞结构的相互作用

在了解病毒致细胞病变作用外，还发现病毒从吸附、穿入、脱壳、合成、装配、成熟到释放的全过程都在利用细胞的结构和组分，同时又在不断的破坏细胞的结构。如病毒感染细胞后，改变了宿主细胞膜的成分，掺入了病毒编码的糖蛋白。有些病毒利用细胞骨架进行运输，但又破坏它的结构等。

（三）病毒的生物合成与细胞代谢的相互作用

这方面研究的最为深入，发现病毒与细胞在生化合成过程（包括复制、转录、RNA加工、翻译和后加工各个环节）中的相互作用。

第三节　抗病毒感染免疫

病毒为专性细胞内寄生，与宿主细胞的关系密切。一些病毒的基因和抗原也易发生变异，导致抗病毒感染的方式多种多样，有些病毒感染难以产生满意的免疫效果。因此，抗病毒免疫除了具

有抗感染免疫的共性外，还有其特殊性。机体抗病毒感染免疫应答包括固有免疫和适应性免疫（表21-5）。病毒感染后普遍存在发热症状，发热也是一种非特异性防御功能抑制病毒增殖，全面增强机体免疫反应，有利于清除病毒。

表21-5 抗病毒免疫主要作用机制

免疫类型	免疫因素	免疫机制
固有免疫	屏障作用	防止病毒侵入
	吞噬细胞	吞噬、灭活和清除病毒，递呈病毒抗原
	补体等病毒抑制物	增加抗体的中和活性，抑制病毒增殖
	自然杀伤细胞	感染早期活化干扰素，杀伤病毒感染的细胞
	干扰素	感染早期诱导细胞产生抗病毒蛋白，抑制病毒复制
适应性免疫	体液免疫 抗体	中和抗体阻止病毒吸附，针对游离病毒发挥调理作用
	T细胞免疫	CTL和Th1细胞能杀伤感染细胞，清除细胞内病毒

一、固有免疫

抗病毒固有免疫在感染早期发挥限制病毒迅速繁殖和扩散，吞噬细胞对阻止病毒感染和促进感染的恢复具有重要作用。如果吞噬的病毒不能清除，则可将病毒带到全身引起播散。抗病毒固有免疫除了机体皮肤、黏膜、胎盘和血脑的机械和化学屏障外，干扰素和自然杀伤细胞（NK细胞）在抗病毒固有免疫中发挥着主要作用。

（一）干扰素

病毒突破机体保护屏障进入机体后，能刺激人体的巨噬细胞、淋巴细胞以及体细胞产生干扰素。

1. 干扰素概念 干扰素（interferon，IFN）是由病毒或其他诱生剂刺激机体的多种细胞产生的一类功能性糖蛋白。干扰素分子量小，对热相对稳定，4℃可保存较长时间，－20℃保存生物活性长期不变，56℃可被灭活。

2. 干扰素的功能 干扰素具有广谱抗病毒作用，能阻止病毒增殖和扩散，在控制病毒感染及促进病毒性疾病的痊愈等方面起重要作用。主要功能是：①抗病毒作用，抑制病毒的繁殖（而非杀灭），并具有广谱性、间接性、相对种属特异性以及选择性；②抗肿瘤作用，可明显抑制肿瘤细胞分裂和增殖，对迅速分裂细胞的抑制作用明显，对正常细胞增殖也有抑制作用；③调节免疫作用，干扰素可通过调节细胞免疫、体液免疫及非特异性免疫来调节机体的免疫功能，干扰素可通过调节K细胞和NK细胞的活性来调节人体的免疫监视功能，对免疫自稳也有一定的调节作用；④其他作用，例如增强单核巨噬细胞、中性粒细胞吞噬能力，活化NK细胞和增加抗原递呈作用等。

3. 干扰素类型 干扰素根据产生细胞分为3种类型：白细胞产生的为α型（IFN-α）；成纤维细胞产生的为β型（IFN-β）；T细胞产生的为γ型（IFN-γ）。根据干扰素的细胞来源、受体和生物活性等综合因素将其分为Ⅰ、Ⅱ两种类型。

Ⅰ型干扰素：包括IFN-α和IFN-β，又称抗病毒干扰素，生物活性以抗病毒为主，对酸稳定。IFN-α、β的受体为同一种分子，其基因位于第21号染色体上，表达在几乎所有类型的有核细胞表面，因此其作用范围十分广泛。

Ⅱ型干扰素：IFN-γ，又称免疫干扰素，由活化的T细胞和NK细胞产生；主要生物活性是参与免疫调节，是体内重要的免疫调节因子。IFN-γ的基因只有一个，位于人类第12号染色体上；IFN-γ的受体与Ⅰ型干扰素的受体无关，其基因位于第6号染色体上，但也同样表达在多数有核细胞表面；IFN对酸不稳定。

4. 干扰素作用特点 干扰素抗病毒作用有四个特点：①干扰素是诱生蛋白质，其产生需要诱生剂。正常细胞一般不能自发产生干扰素，只存在合成干扰素的潜能，干扰素的基因处于被抑制的静

止状态。只有在某些特定因素的作用下才能诱使细胞产生干扰素。Ⅰ型干扰素的主要诱生剂是病毒及人工合成的双链RNA，此外，某些细菌、原虫感染及某些细胞因子也能诱导Ⅰ型干扰素的产生；②干扰素的抗病毒作用是间接的。产生的干扰素不能进入宿主细胞直接杀灭病毒，要通过诱导其他细胞产生多种抗病毒蛋白物质发挥抑制病毒作用；③干扰素具有广谱抗病毒作用，几乎可以抑制所有病毒的增殖；④干扰素的抗病毒作用具有种属特异性和细胞选择性，干扰素对异种细胞内的病毒不具有抑制作用，对正常细胞也无明显作用。

5. 干扰素的抗病毒作用机制与过程　①首先与邻近其他细胞膜受体接触并结合，诱导细胞内产生多种特殊蛋白质即抗病毒蛋白（antiviral protein，AVP）；②在病毒感染的细胞中，干扰素诱导的AVP具有2′-5′寡腺苷合成酶活性，能激活一种内源性核酸内切酶，从而降解病毒RNA，干扰了病毒mRNA信息的传递，阻止病毒在宿主细胞内繁殖；③在病毒感染的细胞中还诱导蛋白激酶（PRK）产生，该酶能灭活核糖体合成所必需的酶，从而使蛋白合成减少，病毒生长受到阻抑；④其他抗病毒相关机制：干扰素还可以增加组织相容抗原-Ⅰ（HLA-1）的表达，这些抗原对杀伤性T细胞识别靶细胞十分重要。γ-干扰素有增加白细胞介素-2（IL-2）受体作用，IL-2有助诱生IFN-γ，故IL-2与IFN-γ在功能上有密切联系和协调作用。总之，干扰素的抗病毒机制在于通过诱导AVP的产生，AVP再发挥作用抑制病毒mRNA转录和病毒蛋白的合成，从而阻断病毒繁殖和复制。

（二）自然杀伤细胞

自然杀伤细胞（natural killer cell，NK）能在感染早期杀伤病毒感染的细胞，它不受MHC的限制，也不需抗体参与，在无抗原刺激的情况下发挥非特异的细胞固有免疫作用。其机制是：在病毒感染早期，病毒感染的细胞膜发生了变化，成为NK自然杀伤细胞识别的靶细胞，在体内4小时就表现出杀伤效应。NK细胞与感染了病毒的靶细胞结合和作用后，活化的NK细胞通过释放：①穿孔素溶解病毒感染细胞；②丝氨酸酯酶激活核酸内切酶切断病毒DNA诱发细胞凋亡；③细胞因子TNF导致细胞死亡，IFN-γ抑制细胞内病毒增殖。NK细胞的非特异性直接破坏病毒感染的靶细胞，在抗病毒免疫中发挥着重要作用。

二、适应性免疫

病毒逃脱了机体固有免疫的第一道防线后，就面临特异性体液免疫和细胞免疫（抗病毒的适应性免疫）。适应性免疫是接着固有免疫执行清除病毒的作用。抗病毒适应性免疫包括：①体液免疫的抗病毒作用（中和抗体、抗病毒免疫球蛋白及非中和抗体对靶细胞作用）；②细胞免疫抗病毒作用（杀伤性T细胞等）。

（一）抗病毒体液免疫

特异性抗体对细胞外的游离病毒和病毒感染细胞均能发挥作用，但主要作用于宿主细胞外病毒。病毒的表面各种抗原刺激机体产生特异性抗体（IgG、IgM、IgA），IgG能通过胎盘由母体输给胎儿，对新生儿有防御病毒感染的作用。SIgA产生于受病毒感染的局部黏膜表面，是局部抗病毒免疫的重要抗体。

1. 病毒中和抗体对游离病毒的作用　由具有吸附和穿入作用的病毒表面抗原诱生的抗体称病毒中和抗体（virus neutralizing antibody）。中和抗体与细胞外游离（体液中或吸附细胞膜）病毒结合后，能消除病毒的感染能力。发挥中和病毒作用的机制是：①中和抗体直接封闭病毒与细胞结合的抗原表位，病毒的吸附位点被覆盖，阻断病毒表位与宿主细胞受体的结合，导致不能进入易感染细胞；②病毒表面构型改变，失去了与细胞病毒受体结合能力；③与包膜病毒表面抗原结合，通过激活补体使病毒裂解；④病毒与中和抗体结合形成的免疫复合物，被吞噬细胞清除。在病毒血症期间抗体如能充分发挥作用，可防止严重临床症状产生。中和抗体不能直接杀伤和灭活病毒，只在抑制病毒血症、限制病毒扩散及抵抗再感染起重要作用。由不具有吸附和穿入作用的病毒内部抗原诱生的抗体称病毒非中和抗体，非中和抗体（如流感病毒的NA抗体）虽不能够阻止病毒进入细胞，但可和

病毒形成抗原抗体复合物易于被吞噬细胞吞噬降解而易被清除。

2. 抗体对病毒感染细胞的作用　抗体破坏病毒感染细胞的方式：①抗体与病毒感染的细胞结合后可激活补体，通过协同作用使病毒感染细胞裂解；或者通过调理作用促进吞噬细胞吞噬病毒感染细胞；②通过NK、巨噬细胞发生ADCC作用杀伤靶细胞。ADCC作用所需要的抗体量少，因而是病毒感染初期的重要防御机制。

（二）抗病毒细胞免疫

对进入感染细胞的细胞内病毒，抗体不能直接发挥抗病毒作用。清除感染细胞内病毒需要细胞免疫完成清除任务，参与抗病毒细胞免疫的效应细胞主要依靠$CD8^+$毒性CTL细胞和$CD4^+$ Th1细胞。抗病毒细胞免疫的效应细胞除了依靠细胞吞噬作用外，还主要依靠其分泌的具有抗病毒活性的细胞因子发挥作用。

1. CTL细胞的杀伤作用　病毒特异的CTL细胞必须与靶细胞接触才能发生杀伤作用，CTL通过表面抗原受体识别和结合病毒感染的靶细胞，然后分泌效应分子导致病毒感染细胞裂解和细胞凋亡。两种效应分子：①穿孔素，使靶细胞膜形成孔道，致胶体渗透，杀死感染的靶细胞；②颗粒蛋白酶（丝氨酸酯酶），能降解靶细胞的细胞核。CTL细胞受MHC Ⅰ类分子限制，CTL细胞的杀伤效率高，可连续杀伤多个细胞，是发挥细胞毒作用的主要细胞。

2. Th1细胞的抗病毒作用　活化的Th1细胞能分泌IFN-γ、TNF-α和IL-2等多种细胞因子，通过激活巨噬细胞和NK细胞，促进CTL细胞的增殖和分化，诱发炎症等发挥增强细胞免疫，限制病毒的扩散和增殖的抗病毒感染作用。

此外，γ、δ、T细胞在病毒感染中可能也有作用，这类T细胞在口腔、生殖道等上皮组织中发挥抗病毒感染作用。

展　望

病毒感染是病毒在宿主细胞内复制和基因表达的过程，同时也引起细胞的病理损伤和子代病毒在宿主体内的传播。病毒感染多为隐性感染，显性感染中除急性感染外，持续性病毒感染受到重视。在持续感染中，病毒长期存在，不仅成为重要的传染源，还与肿瘤及某些免疫性疾病的发生有关。新现和再现病毒病的不断出现、生物入侵、生物安全和生物恐怖的发生已引起人类的高度重视，对它们致病机制的研究也有新的发现（如SARS）。今后将从分子病毒学和抗病毒免疫学两个方面对病毒感染进行深入研究。

病毒受体的研究进展很快，是分子病毒学研究中的活跃领域。病毒和细胞病毒受体的相互作用决定了病毒的细胞依赖性、亲嗜性和感染性。目前，常见病毒的细胞受体分子多已确定，这为深入研究病毒的致病机制和寻找抗病毒药物新的靶点都奠定了良好基础。

病毒感染和机体抗病毒感染免疫研究发展很快，抗病毒感染免疫研究业已进入新的分子水平，并取得新的进展。细胞因子在抗病毒感染免疫中的作用成为热点，其作用机制及其临床应用的研究和开发将是重点。

今后，病毒与宿主细胞相互作用的研究将向分子水平及整体水平两个方向深入发展。可以预料，在这两方面所取得的成果将为揭示已知病毒致病、致瘤、致畸机制方面做出重大贡献；有助于阐明更微小的亚病毒（类病毒、朊粒等）的致病作用；将使一些病因不明但与病毒相关的神经系统、自身免疫性疾病（如精神分裂、慢性疲劳综合征、SLE及类风湿等）的研究取得突破性进展。

（楚雍烈）

第二十二章　病毒感染的检测方法与防治原则

病毒学实验室诊断可采用临床标本的细胞学试验证实可疑的诊断，试图分离病毒并观察病毒致细胞病变效应（CPE）。但许多病毒要求苛刻或生长缓慢，不能及时提供临床有用信息以至影响对患者的处理，因此快速诊断被广泛应用于病毒学诊断。这些方法包括：①检测病毒形态，观察病毒感染所致包涵体和CPE（光学和电子显微镜或免疫电镜）；②检测病毒抗原（免疫荧光检测，固相放射性免疫检测和ELISA）；③IgM型抗病毒抗体检测；④病毒核酸检测（核酸电泳、限制性酶的酶切图谱），核酸杂交（原位杂交、点杂交、DNA或RNA印迹杂交），PCR、基因测序、基因芯片或DNA微阵列等。

由于病毒严格的活细胞内寄生性，故治疗病毒性疾病要求抗病毒药物仅选择性地抑制病毒增殖而不损害宿主细胞或机体。病毒性感染在人群中十分常见，尽管随着分子病毒学发展而研制出许多抗病毒新药，但迄今理想的抗病毒药物并不多。因为大多数抗病毒药物应用都有一定的限制，甚至有时可对机体产生很大的副作用。因此加强对病毒感染的预防十分重要，通过接种疫苗可使机体获得一定的特异性免疫力，是一种行之有效的方法。

The virology laboratory can confirm the suspected diagnosis by cytological examination of clinical specimen；attempting to isolate the virus；observation of virus-induced cytopathological effects（CPEs）on cell. However，many viruses are so fastidious or slow-growing that useful information cannot be given to clinicians and are too slow to influence patient management. Thereby rapid diagnosis is widely used in diagnostic virology. These methods include：①Detection of viral shape，observed inclusion body and CPE of viral infection（light and electronic-microscopy，or immuno-electronic-microscopy）. ② Detection of viral antigen（Immunofluorescene，Solid-phase radioimmunoassay and ELISA）. ③ Detection of viral antibodies（IgM）. ④ Assays for viral nucleic acid（nucleic acid electrophoresis，restriction endonuclease cleavage patterns），nucleic acid hybridization（In situ hybridization，Dot blot hybridization，Southern or Northern blot hybridization），PCR，gene sequencing and gene chips or DNA microarrays.

Viral diseases should be treated by antiviral drug which can suppress virus reproduction and have no harmful to us because viruses have to parasitize in living cells strictly. Viral infection is common in human，although many new antiviral drugs are used in clinic medicine with the development of molecular virology，the number of the effective antiviral drugs is very small up to now. Since the limitation of antiviral efficiency and the toxicity，it is very important and effective that control of many viral diseases has been accomplished by vaccination.

第一节　病毒感染的检测方法

病毒的分离与鉴定是病毒病原学诊断的金标准，但因病毒是严格细胞内寄生，须在活的易感细胞培养，故病毒的分离鉴定较困难、繁杂，且需时很长，随着分子病毒学的发展，临床上现已不断建立新的快速诊断方法，检查程序见图22-1。

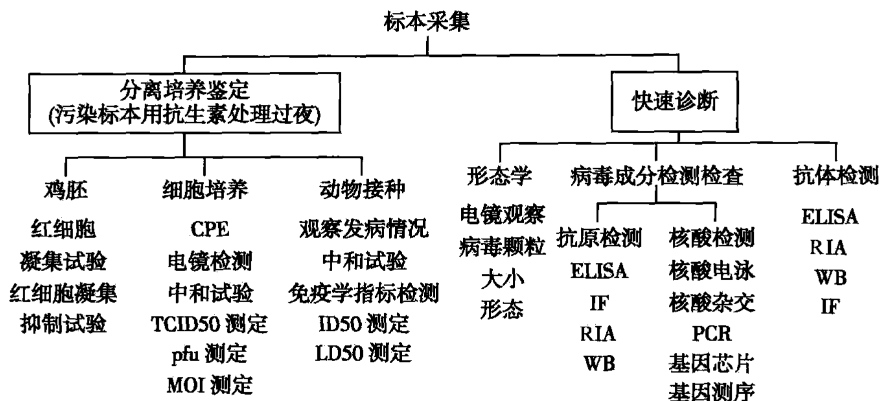


图22-1 病毒感染的检查程序

一、标本的采集与送检

1. 早期取材 采取病程初期或急性期的标本，其分离阳性率较高，主要用于分离病毒或检测病毒及其核酸的标本。

2. 注意无菌操作与正确处理含菌标本 取材时应尽量避免外界污染，对呼吸道分泌物、粪便等标本，应使用抗生素处理以杀死标本中的细菌或真菌等。

3. 低温保存与尽快送检 病毒在常温下很易灭活，故采取标本后应立即送往病毒实验室。如标本需较长时间运送，应在采集或标本运送过程中冷藏，如放在盛有冰块的低温瓶中运送，病变组织可放50%中性甘油缓冲盐水中保存，不能立即检查的标本，应置于－70℃保存。

4. 血清学诊断标本 采取双份血清，即在发病初期和病后2～3周内各取一份血液以便对比双份血清中抗体效价，血清抗体标本应保存在－20℃。

二、病毒的分离与鉴定

病毒具有严格的细胞内寄生性，如果活细胞表面没有病毒要求的特异性表位，病毒则不能感染细胞。故应根据不同的病毒选用敏感细胞，包括敏感的动物和一定胚龄的受精卵进行病毒的分离与鉴定。

（一）病毒的分离培养

1. 动物接种 最原始的分离病毒的方法，但目前已很少应用。只在对狂犬病病毒或乙型脑炎病毒的分离鉴定中还用乳鼠脑内接种。

2. 鸡胚培养 鸡胚对多种病毒敏感，按接种部位分为：①卵黄囊接种，常用于某些嗜神经病毒的分离；②羊膜腔接种，常用于流感病毒的初次分离；③尿囊腔接种，常用于培养流感病毒和腮腺炎病毒等，也可用于制备疫苗和大量病毒抗原；④绒毛尿囊膜接种，常用于培养单纯疱疹病毒、天花病毒和痘病毒等。目前除分离流感病毒还继续选用鸡胚外，其他病毒的分离基本已被细胞培养所取代。

3. 细胞培养 目前最常用的方法是细胞培养。根据病毒的细胞嗜性，选择适当的细胞。常用的细胞有：①原代培养细胞（primary cultural cells），如猴肾或人胚肾细胞等，敏感性高但来源困难；②二倍体细胞株（diploid cell strain），可有限传50代左右，便于实验室使用，但经多次传代后也会出现细胞老化和衰亡；③传代细胞系或株（continuous or infinite cell line or strain），如HeLa、Hep-2细胞等，便于实验室保存，对病毒感染性稳定，应用广泛。

标本接种后溶细胞型病毒可致细胞出现细胞病变效应（cytopathic effect，CPE），稳定感染病毒的细胞并不出现明显病变，但被感染的细胞膜表面会出现病毒编码的蛋白等标志物，如血凝素、神经氨酸酶、病毒特异性抗原等，可用血细胞吸附或免疫学方法检测有否病毒的增殖。当CPE或检

测试验结果均阴性，可能因标本中病毒含量较低，即便病毒有增殖也未被检出，此时则需盲目传代3次后，如仍然未见CPE或检测试验阴性方可确定标本中无病毒存在。

（二）病毒的鉴定

1. 病毒在培养细胞中增殖的鉴定指标

（1）细胞病变（cytopathy）：大多数病毒属溶细胞型感染，在敏感细胞内增殖会出现CPE，CPE可表现为细胞内颗粒增多、圆缩、聚集、融合，有的可形成包涵体，最后出现细胞溶解、脱落、死亡等（图22-2）。不同病毒的CPE特征不同，如腺病毒可引起细胞圆缩、团聚，典型者呈葡萄串样；副黏病毒、呼吸道合胞病毒等引起细胞融合，形成多核巨细胞等。因此，观察病毒所致CPE的特点，根据选择的细胞类型，细胞病变种类可对标本中感染的病毒进行判定。但有包膜的病毒（如流感病毒等）以出芽方式释放子代病毒，在细胞内增殖是稳定感染，可不出现病变或所致病变轻微不易觉察，此类病毒可用其他方法进行鉴定。

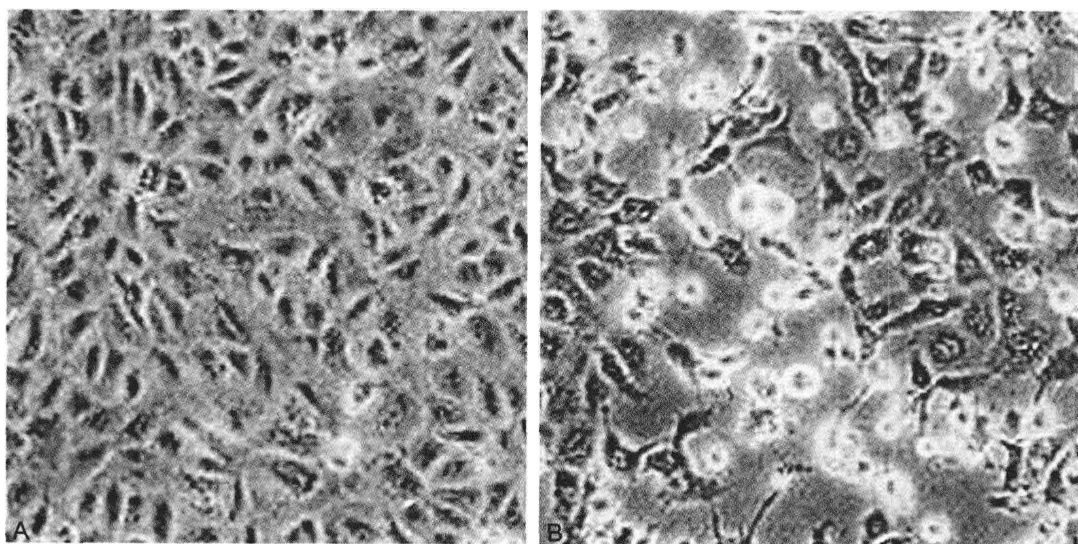


图22-2 正常细胞和发生细胞病变效应细胞的比较
A. 正常细胞；B. 发生CPE的细胞

（2）红细胞吸附（hemadsorption）：包膜上带有血凝素的病毒感染敏感细胞后，血凝素会出现于细胞膜表面，使感染细胞能与加入的红细胞结合，称为红细胞吸附现象，这是检测正黏病毒和副黏病毒的间接指标。

（3）病毒干扰作用（Viral interference）：某些病毒感染细胞后不出现CPE，但可干扰其后感染同一细胞的另一种病毒的增殖，从而阻抑后者所特有的CPE。如埃可病毒11型单独感染猴肾细胞可出现明显的CPE，而风疹病毒在感染猴肾细胞后不出现CPE，但可抑制随后接种的埃可病毒11型在细胞中的增殖。此法可用于检测风疹病毒，但缺乏特异性，现已被免疫学试验及核酸检测等特异方法所替代。

2. 病毒感染性测定及病毒数量测定

（1）红细胞凝集试验：又称血凝试验。含有血凝素的病毒接种鸡胚或感染细胞后，如病毒增殖并释放至细胞外，收集鸡胚羊膜腔液、尿囊液，或收集细胞培养液，加入动物红细胞后可出现红细胞凝集，可作为病毒增殖的指标。如将病毒悬液作不同稀释，以血凝反应的最高稀释度作为血凝效价，可对病毒含量进行半定量检测。

（2）中和试验（neutralization test，NT）：用已知抗某病毒血清先与待测病毒悬液混合，在适温下作用一定时间后接种敏感细胞，经培养后观察CPE或红细胞吸附现象是否消失，即特异性抗体能否中和相应病毒的感染性，这是比较可靠的病毒诊断方法。如用不同浓度的抗血清进行中和试验，还可根据抗体的效价对待测病毒液进行半定量检测。

（3）空斑形成试验（plaque formation test）：是检测标本中病毒数量的一种方法，将一定量适当稀释浓度的待检病毒液接种于敏感的单层细胞中，经一定时间培养后，在细胞上方覆盖一层融化尚未凝固的琼脂后继续培养，可见单个病毒的增殖使感染的单层细胞溶解脱落，形成肉眼可见的空斑，一个空斑是由一个病毒增殖所致，计数培养皿中空斑数可推算出该样品中病毒的数量。通常以每毫升病毒液的空斑形成单位（plaque forming unit，PFU），即pfu/ml表示。

（4）50%组织细胞感染量（50% tissue culture infectious dose，$TCID_{50}$）测定：将待测病毒液作10倍系列稀释，分别接种单层细胞，经培养后观察CPE等指标，以能感染50%细胞的最高稀释度的病毒量为终点，经统计学处理计算$TCID_{50}$。该法以CPE来判断病毒的感染性和毒力。

（5）感染复数（multiplicity of infection，MOI）测定：原指在一特异性试验中感染单一细菌细胞的噬菌体的平均数，现作为病毒感染性的定量检测。

由于病毒分离培养与鉴定的方法繁杂，要求条件严格及需时较长，不能广泛应用于临床诊断。仅在以下情况考虑应用：①病程长且诊断困难的患者，疑似病毒感染，但针对病毒的检测结果均阴性，进行病毒分离对诊治有指导性意义；②怀疑为新现病毒感染或已被消灭的病毒病“死灰复燃”；③为鉴别不同病毒所致具有相同症状的疾病，以明确何种病毒感染；④对所用的减毒活疫苗监测回复毒力突变株的出现；⑤用于病毒生物学性状的研究或流行病学调查等。

三、病毒感染的快速诊断

病毒的分离与鉴定是病毒诊断的金标准，但临床实验室应用困难，而且费时，故临床检查一般多采用快速诊断。快速诊断主要指绕过分离培养过程，直接在电镜下观察标本中的病毒颗粒，或直接检测病毒成分（抗原、核酸）和IgM型特异抗体等，以作出快速和早期诊断。

（一）形态学检查

1. 电镜和免疫电镜检查　含有高浓度病毒颗粒（≥10^7颗粒/ml）的样品，可直接应用电镜技术观察病毒颗粒。对含低浓度病毒的样本可用免疫电镜技术使病毒颗粒凝聚后再观察，或经超速离心后取标本沉淀物进行电镜观察，以提高检出率。电镜下不仅能观察病毒的形态学特征，还可测量病毒的大小。

2. 光学显微镜检查　病理标本或含有脱落细胞及针吸细胞的标本可在有病毒增殖的部位（胞核、胞质）出现嗜碱性或嗜酸性包涵体。包涵体对病毒的诊断有一定价值，如取可疑病犬的大脑海马回制成染色标本，可在显微镜下见到胞质内嗜酸性“内基”小体，可作为狂犬病的诊断。病理标本根据病理特征，再配合组化染色技术也可进行诊断。

（二）病毒蛋白抗原检测

一般采用免疫学技术直接检测标本中的病毒抗原进行早期诊断。目前常用酶联免疫吸附试验（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）、免疫荧光测定（immunofluorescence assay，IFA）和放射免疫测定（radioimmunoassay，RIA）等技术。这些技术操作简便、特异性强、敏感性高。用标记的高质量的特异性抗体，尤其使用单克隆抗体标记技术可测到ng（10^{-9}g）至pg（10^{-12}g）水平的抗原或半抗原。其中由于放射性核素可引起放射性污染，故放射免疫标记技术的使用逐渐减少，并被非放射性标记物（如地高辛等）所代替。应用蛋白质印迹（Western blot，WB）试验检测病毒抗原，具有确诊意义。

（三）检测病毒核酸

由于大多数病毒基因已成功地被克隆并进行了全基因的测序，为病毒的核酸检测打下了基础，使其成为对病毒感染进行诊断的又一快速、敏感、特异的检测方法。

1. 核酸电泳　正黏病毒属和呼肠病毒属的核酸是分节段的，甲型流感病毒8个节段，乙型流感病毒7个节段，呼肠病毒10个节段，轮状病毒11个节段。从标本中直接提取轮状病毒的核酸，不用内切酶水解就具有11个节段，经聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）和银染色后在凝胶板上清楚可见

11个条带，结合临床情况可进行诊断（图22-3）。

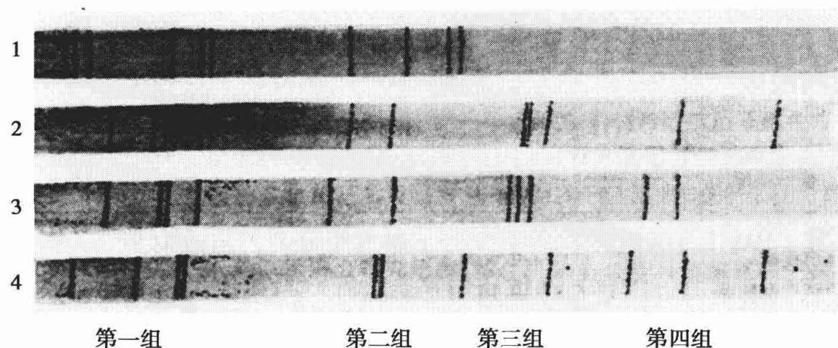


图22-3　轮状病毒核酸电泳图型比较

1. 呼肠病毒（10条RNA条带）；2. A组轮状病毒（11条RNA条带、长型）；
3. A组轮状病毒（11条RNA条带、短型）；4. B组轮状病毒（11条RNA条带）
（张卓然主编　临床微生物学和微生物检验）

2. 核酸杂交　其原理是应用已知序列的核酸单链作为探针（probe），探针预先用放射性核素（^{32}P或^{131}I）或生物素、地高辛苷原、辣根过氧化物酶等标记，在一定条件下按碱基互补规律与标本中靶序列结合，通过对标记物的检测证明标本中存在代表某病毒的特异核酸序列，从而作出早期诊断。常用的核酸杂交技术如下：

（1）斑点杂交（dot blot hybridization）：将待测的DNA或RNA直接点样在杂交滤膜上，变性后与标记的探针核酸序列杂交，根据标记物的不同采用放射自显影或酶反应技术等检测放射性核素或非放射性标记物。

（2）原位杂交（in site hybridization）：是核酸杂交结合细胞学技术的一种特殊检测方法，在病理切片上，用细胞原位释放的DNA或RNA与标记的特异核酸探针进行杂交。通过显色技术可直接观察待测核酸在细胞内的分布状态和与细胞染色体的关系等。

（3）DNA印迹（Southern blot）和RNA印迹（Northern blot）杂交技术：是将标本中提取的DNA或RNA用限制性内切酶切割后，经琼脂糖电泳形成核酸内切的条带图谱，然后再将琼脂糖凝胶中的核酸条带电转移至硝酸纤维膜上，与标记的探针序列进行杂交，可以检测病毒的DNA或RNA中的特异序列。

3. 聚合酶链反应（polymerase chain reaction，PCR）　选择病毒的特异、保守片段作为靶基因，用设计的特异引物（primer）序列在多聚酶（Taq酶）的作用下扩增病毒特异序列，对病毒感染进行诊断。或选择病毒的易变区，结合限制性片段长度多态性（RFLP）分析，或测序等技术可对病毒进行分型和突变的研究。对RNA病毒的PCR检测采用逆转录PCR（reverse transcription PCR，RT-PCR），如H1N1的检测就是利用RT-PCR来扩增出此病毒的特异性核酸片段，按照核酸片段的大小加以鉴定。随着实验诊断的要求而不断改进PCR技术，近年来出现了连接酶链反应（ligase chain reaction，LCR）和定量实时荧光PCR（real-time PCR），该技术将基因扩增、分子杂交和光化学融为一体，实现了对PCR扩增产物进行实时动态的定量检测。

4. 基因芯片技术（gene chip）　随着微生物基因组计划的快速进展，已完成很多微生物的基因测序工作，利用这些生物信息与自动化技术相结合产生了基因芯片技术，这是第三代遗传单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms）标记技术与自动化连锁微量分析技术的结合产物，可一次性完成大通量样品DNA序列的检测和分析。

5. 基因测序　包括病毒全基因测序和特征性基因片段的测序。目前对已发现的病原性病毒的全基因测序已基本完成，再结合生物信息学的比较分析手段，便可将所检测的病毒特征性基因序列与这些基因库的病毒标准序列进行比较，以达到诊断病毒感染的目的。

（四）早期抗体检测

1. IgM型特异抗体检测　病毒感染机体产生的早期特异性抗体，如检测特异性IgM可进行早期诊断。如孕妇羊水中查到IgM型特异抗体可诊断某些病毒引起的新生儿先天性感染；抗HBc出现较早，常以抗HBc IgM作为急性HBV感染的指标。IgM抗体的测定有助于早期诊断，但在感染早期机体产生IgM有明显的个体差异。

2. 免疫印迹试验（Western blot，WB）　某些病毒感染的诊断需持慎重认真的作法。如AIDS和成人白血病等，在初筛试验阳性后，尚需用WB法进行确认试验。此法是将提纯的HIV处理后经聚丙烯酰胺凝胶电泳（PAGE）将病毒蛋白质按分子量大小分开，再经电转移至硝酸纤维素膜上制成膜条，然后将待检患者血清与带有HIV蛋白的膜条反应，若血清中含有抗HIV抗体即可结合到相应的蛋白质部位。另外放射免疫沉淀试验也可用于HIV抗体检测的确认试验。

第二节　病毒感染的防治原则

一、病毒感染的预防

目前对大多数病毒感染尚无特效药物，因此对病毒感染的预防显得尤为重要。病毒感染的一般预防原则与其他微生物感染的预防原则相同，主要是围绕控制传染源、切断传播途径及增强人群免疫力三个方面来进行。其中人工免疫是增强人群特异性免疫力的重要措施，包括人工自动免疫和人工被动免疫。

（一）人工自动免疫

人工自动免疫是将疫苗等免疫原接种于人体，使之产生特异性免疫力的预防方法。用作预防病毒感染的疫苗主要有以下几类。

1. 减毒活疫苗（attenuated vaccine）　是通过毒力变异或人工选择培养将有毒株变为减毒株或无毒株，如Sabin脊髓灰质炎疫苗（OPV疫苗）、麻疹疫苗、鼻喷雾型减毒佐剂流感病毒活疫苗（LAIV）、腮腺炎疫苗、风疹疫苗、水痘疫苗等。减毒活疫苗以自然感染方式接种，可在体内增殖，刺激机体产生类似自然感染所获得的免疫力；接种量与接种次数均较灭活疫苗少；免疫力保持时间长。但减毒活疫苗不稳定，室温下易灭活，保持与运输均应冷藏；疫苗株进入人体非寻常部位可引起并发症（如种痘后脑炎）；也有可能激活潜伏的病毒，此外还有毒力恢复突变的可能，故减毒活疫苗有一定潜在危险性。对于具有正常免疫应答功能的个体使用减毒活疫苗是非常安全的，但对有免疫缺陷，尤其是细胞免疫功能低下者或使用免疫抑制剂患者应选用灭活疫苗或提纯的蛋白疫苗。

2. 灭活疫苗（inactivated vaccine）　通过理化方法，将具有毒力的病毒灭活后制成灭活疫苗，这种疫苗失去感染性但仍保持原病毒的抗原性。一般病毒灭活剂是甲醛、β-丙酰内酯等。常用的灭活疫苗有流行性乙型脑炎疫苗、狂犬疫苗、Salk脊髓灰质炎疫苗（IPV疫苗）和注射用流感病毒灭活疫苗（Flu shot）等。灭活疫苗稳定，使用安全，但要注射较大剂量才能诱发出有效的免疫力，且不能诱导产生黏膜免疫和细胞免疫。基本免疫过程通常包括2～3次疫苗注射，一定时间内尚需加强注射。故使用灭活疫苗不如活疫苗简便、经济，且免疫力维持时间也短于活疫苗。

3. 亚单位疫苗（subunit vaccine）　主要用于预防病毒感染的亚单位疫苗有流感病毒血凝素18个氨基酸肽、Ⅰ型脊髓灰质炎病毒及狂犬病毒刺突蛋白等。这些疫苗的优点是能去除引起毒副反应的物质，可消除其发生回复突变或感染性复活的可能；因为此种疫苗去除了核酸，可消除DNA病毒或反转录RNA病毒的潜在致癌作用等。

4. 基因工程疫苗（gene engineered vaccine）　应用重组DNA技术，提取编码病毒特异性保护抗原的基因，将此基因插入载体，并导入酵母或大肠埃希菌内表达相应的病毒抗原。如目前使用的乙型肝炎疫苗就是通过DNA重组技术制备的基因工程疫苗。

5. 核酸疫苗（nucleic acid vaccine）　目前研究较多的是DNA疫苗，由可在真核细胞中表达的

载体（如质粒DNA）和编码病原体有效免疫原的cDNA重组而成。疫苗接种后，进入细胞内的重组DNA疫苗核酸可表达出病毒的抗原，从而刺激机体产生体液免疫和细胞免疫。因此为艾滋病、流感等病毒性疾病的预防带来了希望的曙光。

（二）人工被动免疫

1. 免疫球蛋白　主要有胎盘丙种球蛋白（placental gammaglobulin）和人血清丙种球蛋白（serum gammaglobulin）两种制剂。前者是从健康产妇胎盘和脐带血中提取、纯化制备的；后者是从健康成人血清中提取制备的。健康产妇或成人一般都经历过多种病原微生物的隐性或显性感染，故血清中含有多种相应抗体。由于这类制剂不是专门针对某一种细菌或病毒的特异抗体，免疫效果自然不如特异性IgG抗体好，故主要用于某些病毒性疾病（如麻疹、甲型肝炎等）的紧急预防，也可用于治疗丙种球蛋白缺乏症患者，烧伤患者以及长期化疗或放疗的肿瘤患者细菌感染的应急预防等。此外，还有专门针对某一特定病原微生物的高效价的特异性免疫球蛋白，有一定效果，如乙型肝炎免疫球蛋白（HBIg）。

2. 细胞免疫制剂　由于细胞免疫制剂的特异性较低，免疫细胞及细胞因子种类繁多，相互间调控机制复杂，因此细胞免疫制剂在抗感染免疫中的应用并不广泛。目前临床常用的有细胞因子（cytokine）如α、β或γ干扰素（IFN-α、β或γ）、白细胞介素（IL-2、IL-6、IL-12等）、肿瘤坏死因子（TNF）以及淋巴细胞激活的杀伤细胞（LAK细胞）等，主要用于某些病毒性疾病和肿瘤的治疗。

人工被动免疫虽然可使机体立即获得特异性免疫力，但免疫力维持时间短，约一个月左右。若与人工自动免疫制剂、抗病毒药物结合使用，效果更佳。

二、病毒感染的药物防治

由于病毒严格的活细胞内寄生性，故治疗病毒性疾病要求抗病毒药物仅选择性地抑制病毒增殖而不损害宿主细胞或机体。从理论上讲，病毒复制周期中的任何一个环节都可作为抗病毒药物作用于病毒的靶位，如阻止病毒吸附和穿入宿主细胞，阻碍病毒脱壳、释放病毒核酸，干扰病毒核酸复制及生物合成，抑制病毒的装配、成熟与释放等。近年来随着分子病毒学的进展，利用计算机进行分子模拟极大加快了抗病毒药物的筛选和研制，但迄今理想的抗病毒药物并不多。因为大多数抗病毒药物应用都有一定的限制，甚至有时可对机体产生很大的副作用。

目前，抗病毒药物临床应用的较大局限性在于：①药物都是以病毒复制过程中的某个环节作为靶位，因此对不进行复制的潜伏病毒无效。如疱疹病毒往往潜伏于神经细胞，可逃避药物的作用；②某些病毒（如HIV、甲型流感病毒等）的复制突变率非常高，易出现耐药性毒株；③抗病毒药物似乎已不少，由于药物作用病毒的靶点属于病毒复制周期中各自不同的环节和分子，故具体落实到抗某病毒时能供选择的又太少。目前能供临床应用和正在研发的抗病毒药物主要是针对人免疫缺陷病毒（HIV）、人疱疹病毒（HHV）、流感病毒和肝炎病毒等。

（一）抗病毒的化学药物

1. 核苷类化合物　核苷类化合物是最早用于临床的抗病毒药物，其作用机制主要是用合成的异常嘧啶取代病毒DNA前体的胸腺嘧啶，这种异常嘧啶在病毒DNA分子合成时掺入子代DNA中，阻止子代病毒结构基因的合成与表达，从而抑制病毒的复制或复制出缺陷病毒。目前常用的有：

（1）5-碘2-脱氧尿嘧啶核苷（idoxuridine，IDU，疱疹净）：1959年由Prusoff合成，一直沿用于眼疱疹病毒感染的治疗，被誉为抗病毒发展史上的里程碑。

（2）阿昔洛韦（无环鸟苷，acyclovir，ACV）：该药细胞毒性小，是目前最有效抗疱疹病毒药物之一。可用于治疗眼、皮肤、生殖系统和脑神经系统单纯疱疹病毒和带状疱疹病毒感染。

（3）阿糖腺苷（adenine arabinoside，Ara-a）：影响病毒聚合酶作用，本品对多种DNA病毒如疱疹病毒和嗜肝病毒等引起的感染有较显著的作用。

（4）3-氮唑核苷（利巴韦林，ribavirin）：对多种DNA病毒和RNA病毒均有抑制作用，但主要

用于RNA病毒的治疗。临床上主要用于治疗呼吸道合胞病毒和流感病毒的感染。

（5）叠氮脱氧胸苷（azidothymidine，AZT）：主要影响病毒反转录酶的作用，从而抑制病毒的反转录作用。用于治疗HIV感染者，能降低艾滋病的发病率与死亡率，但此药易形成病毒耐药及抑制骨髓等副作用。

（6）拉米夫定（lamivudine，双脱氧硫代胞嘧啶核苷，3TC）：该药最早用于艾滋病的抗病毒治疗，近年来，发现该药可迅速抑制慢性乙型肝炎患者体内HBV 的复制，使血清HBV DNA 转阴，促进HBeAg 血清转换，血清ALT 正常，常用于治疗慢性乙型肝炎，但由于该药常引起病毒的聚合酶突变，而容易导致病毒耐药。

2. 非核苷类似药　该药能抑制病毒DNA聚合酶或RNA逆转录酶的活性。包括：①甲酸磷霉素（phosphonoformic acid，PFA，foscanet）是焦磷酸化合物，可抑制疱疹病毒科各种病毒的DNA聚合酶，也可对HIV逆转录酶的活性有抑制作用。对宿主细胞无影响；②奈韦拉平（nevirapine）、吡啶酮（pyridone）、苔拉韦定（delavirdine）等都是非核苷类逆转录酶抑制剂（non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor，NNRTI）。这些药结合于逆转录酶的活性部位附近，导致酶蛋白变构，干扰酶活性，故已用于AIDS的治疗。由于HIV 易对NNRTI类药物产生耐药性，而且对上述其中一种药产生耐药，对其他药也同样产生耐药。因此NNRTI类必须与核苷类药物等联合使用。

3. 蛋白酶抑制剂　某些病毒含有自身复制酶、逆转录酶或后剪接加工修饰酶。另外病毒核酸分子小，必将高效率利用其序列，病毒复制中常常是先编码较大的前体蛋白，然后再经蛋白酶切割、裂解为病毒的多个结构蛋白和功能蛋白。蛋白酶抑制剂可与上述各种蛋白酶结合而抑制其活性，阻止病毒复制。蛋白酶抑制剂包括：①赛科纳瓦（saquinavir）能抑制HIV复制周期中晚期蛋白酶活性，阻止病毒前体结构蛋白裂解、减少形成成熟病毒体的核心成分。蛋白酶抑制剂与逆转录酶抑制剂联合应用可十分有效地减少血液中HIV含量，但对细胞内的HIV作用差。由于HIV的逆转录酶转录的保真性低，导致基因突变较频繁，其蛋白酶也易变异，故蛋白酶抑制剂不能单独用于HIV感染的治疗，否则很快出现耐药毒株。建议蛋白酶抑制剂要与核苷类似物或非核苷类似物等药物联合应用，即采用所谓“鸡尾酒疗法”（cocktail therapy）。②英迪纳瓦（indinavir）、瑞托纳瓦（ritonavir）、奈非纳瓦（nelfinavir）等药物通过肽键与HIV的蛋白酶结合，抑制蛋白酶活性，用于HIV感染的治疗。蛋白酶抑制剂是应用电脑模型对HIV活性位点分析后设计的，其合成过程曾耗费很长时间与经费，且很复杂，故成本高，应用费用昂贵。

4. 金刚烷胺类　金刚烷胺（amantadine）和甲基金刚烷胺（rimantadine）能抑制甲型流感病毒，其机制主要是影响流感病毒在宿主细胞膜上的吸附，从而阻止病毒进入细胞内。但对乙型流感病毒和其他病毒则无效。

（二）中草药

迄今具有抗病毒作用的中草药有200多种，如黄芪、板蓝根、甘草、大青叶、苍术等对肠道病毒、呼吸道病毒、虫媒病毒、肝炎病毒等具有抑制作用，其机制复杂有待进一步探究。

（三）干扰素及其诱生剂

干扰素具有广泛抗病毒作用，毒性小，在临床上的应用已愈来愈广泛，可分天然型及基因型两种，其中IFN-α的理化性质稳定，目前主要用于慢性肝炎（乙型及丙型肝炎）的治疗。另外有许多免疫调节剂如细菌脂多糖、甘草酸、灵芝多糖等都可诱生干扰素，是良好的IFN诱生剂。

（四）基因治疗剂

抗病毒的基因治疗现已成为抗病毒的研究热点，并展现出良好的前景。目前正在研制的抗病毒基因治疗剂主要有以下几种。

1. 反义核酸（antisense oligonucleotide，asON）　是根据病毒基因组序列设计并合成与病毒基因某段序列互补的寡核苷酸，再将其导入病毒感染的细胞中，通过与病毒基因的相应序列互补结合，可抑制病毒的复制。可分为反义DNA和反义RNA。目前临床第一个批准的反义DNA药物是用于

局部治疗巨细胞病毒性视网膜炎的巨细胞病毒反义核酸。

2. 核酶（ribozyme）　是一类具有双重作用的RNA分子。一方面能识别特异的RNA靶序列并与之互补结合，另一方面又具有酶活性，能通过特异性位点切割病毒的靶RNA，从而抑制病毒的复制。但由于核酶是RNA，易被RNA酶破坏，实际应用尚有困难。

3. 干扰RNA（short interfering RNA，siRNA）　用双股短小RNA，导致相同序列病毒基因静止，同源mRNA降解，通常双链RNA的长度要小于26个核苷酸，siRNA所引起的基因静止作用不仅在注射部位的细胞内发生，并可转移到其他部位的组织和细胞，而且可传代，因此这种干扰现象具有放大效应。

（五）治疗性疫苗

与预防性疫苗不同的是，治疗性疫苗是一种以治疗疾病为目的的新型疫苗，已被应用的有人类免疫缺陷病毒、肝炎病毒等治疗性疫苗。国内外也有人将乙肝疫苗（HBsAg）与其抗体（HBsAb）及其编码基因一起做成治疗性疫苗用于带毒者及慢性肝炎的治疗。治疗性疫苗主要提供治疗作用，与预防性疫苗合用可真正实现疫苗对人类健康的全面、有效的保护作用。

（六）新抗生素类

抗生素（antibiotics）曾被称为抗菌素，说明抗菌素仅具有抑菌和杀菌作用。过去一直认为病毒对抗生素不敏感以区别于其他微生物，近年来随着分子生物学技术的发展，为寻找新的抗HIV药物，以抗生素作为一大类天然产物提供了丰富的资源，发现了一大批具有抗HIV活性的抗生素，使病毒对抗生素不敏感这一固有观念得到了改变。

（1）真菌产物：①Isochromophilones Ⅰ和Ⅱ及其衍生物，能抑制HIV包膜表面gp120与T细胞表面CD4分子结合，阻止病毒吸附和穿入细胞的活性物质，此物质是由青霉菌分离的；②植胞霉素（cytochalasin A和L-696等）是HIV-1蛋白酶的竞争性抑制剂，其抑制作用迅速且具选择性，通过与HIV-1蛋白酶二聚体结合而发挥作用。

（2）放线菌产物：①chloropeptins Ⅰ和Ⅱ能有效抑制gp120和CD4的结合，是由链霉菌中分离的含氯多肽；②siamycin Ⅰ和Ⅱ、feglymycin等，均能影响病毒和细胞的融合过程，阻止病毒的穿入。这些抗生素都是链霉菌的合成产物；③mer-N5075、boromycin等是影响病毒颗粒的装配和成熟的抗生素。Mer-N5075等能抑制HIV-1和HTLV-1蛋白酶活性，而boromycin 则能抑制HIV在感染细胞中的复制，其主要靶点是HIV复制周期的成熟阶段，并阻止HIV成熟颗粒的释放；这些抗生素也是链霉菌产生的；④放线菌素D（actinomycin D，ActD）是临床上广泛应用的抗癌药，后来发现ActD能影响HIV的复制和整合。

（3）新霉素B（neomycin B）：是一种氨基糖苷类抗生素，作用于病毒复制中的调控因子，阻断RNA和蛋白质的结合，从而干扰病毒RNA的复制。

三、抗病毒药物的作用机制

病毒严格细胞内寄生，就要求药物杀灭病毒同时不能对宿主细胞产生损害，必须选择性作用于病毒的复制周期。实际上病毒复制的每个环节都可能是药物的作用靶点，抗病毒药物的作用靶点及作用机制见表22-1。

表22-1　抗病毒药物的作用靶位点及作用机制

作用靶位点	作用机制	代表药物
病毒包膜刺突蛋白（如HIV的gp120、gp41、甲型流感病毒gp120等）	阻止病毒的黏附与穿入①模拟细胞表面上的病毒受体［如CD4分子是HIV的受体，细胞间黏附因子-1（ICAM-1）是鼻病毒的受体］。②抑制gp120-CD4的结合，阻止HIV进入细胞。③药物插入病毒衣壳和细胞膜蛋白之间，干扰病毒和细胞的融合过程	①可溶性CD4分子和ICAM-1等 ②抗生素isochromophilones、chloropeptine ③Siamycin、Feglymycin

续表

作用靶位点	作用机制	代表药物
病毒表面蛋白、脱壳酶	通过提高溶酶体的pH，抑制黏附性蛋白的变构，阻断病毒包膜与溶酶体的融合，阻止病毒脱壳	金刚烷胺、甲基金刚烷胺
病毒基因的特异功能序列	抑制病毒复制：①模拟核苷酸成分掺入病毒基因组使其失活，或竞争病毒复制酶；②竞争抑制病毒DNA或RNA聚合酶活性，干扰病毒核酸转录	碘苷、三氟胸苷、放线菌素D、无环鸟苷、丙氧鸟苷、脱氧鸟苷、叠氮胸苷、双脱氧肌苷（ddI）、双脱氧胞苷（ddC）、双脱氢双脱氧胸苷（d4T）、拉米呋定（3TC）penciclovir femciclovir
病毒蛋白酶、自身复制酶、后剪接加工修饰酶	抑制病毒蛋白酶活性，阻止前体蛋白切割或通过肽键与蛋白酶结合，抑制酶活性，阻止病毒复制	Saquinavirindinavirriton avir nelfinavir cytochalasin resistomycin Mer-N5075
病毒复制的调控基因如tat rev等	作用于病毒调控因子，如抑制tat介导的基因表达或与病毒基因上重要功能区域（TAR、RRE）结合，阻断病毒核酸与蛋白结合而干扰核酸复制	新霉素B（neomycin B）
早期或晚期mRNA	抑制病毒mRNA的加工和mRNA翻译蛋白质，如干扰素能刺激细胞产生三种酶，均能识别并降解mRNA阻断病毒蛋白翻译	干扰素（IFN-α、β）、阿糖腺苷、fomiversin、反义寡核苷酸、核酶、短链干扰RNA
与病毒装配、成熟、释放相关的蛋白酶	抑制病毒的装配、成熟和释放。如流感病毒的成熟、释放，依靠病毒的神经氨酸酶，扎那米韦能抑制该酶活性，阻止流感病毒释放与扩散	Boromycin扎那米韦奥司米韦

展　望

在人类的传染病中约75%以上是由病毒感染所引起，在冬季呼吸道传染病中，由病毒引起者占90%以上。病毒性疾病传染性极强，传播速度快，尤其是新现的HIV、SARS冠状病毒、高致病性禽流感病毒H5N1，更甚的是目前正呈世界性蔓延流行的H_1N_1甲型流感病毒，都严重地威胁我们人类健康。因此，病毒性疾病的诊断与防治都面临新的挑战。

病毒性感染诊断的技术革新与展望，请详见参考第五章展望部分。随着基因组学的发展，传统的病毒分离培养、形态学检查、免疫学和分子生物学等方法除了可以快速诊断出病毒外，也成功地鉴定出了未知新病毒。如SARS冠状病毒的发现，将患者的咽拭子标本与Vero6细胞共孵育，通过病毒培养可在光镜下观察到明显的细胞病变效应，进一步电镜观察发现增殖的病毒具有冠状病毒的外部特征，同时免疫组化和免疫荧光检测发现这种病毒与冠状病毒组Ⅰ的抗血清有交叉反应，提示这种病毒与冠状病毒有亲缘关系，再利用冠状病毒保守序列引物扩增病毒基因片段，得到一长约405bp的PCR产物，测序后确认是一种不同于已知冠状病毒的冠状病毒家族新成员，被命名为SARS冠状病毒。

病毒性感染的治疗是一大难题，使药物只作用于病毒而不伤及支持病毒增殖的宿主细胞，的确很困难，甚至病毒基因整合于宿主细胞染色体上成为前病毒的持续性感染状态，几乎成为无法进行治疗的状况，有望于新兴的基因治疗可能解决这一问题。幸运的是在研究AIDS的治疗过程中发现了不少能抑制和杀灭HIV的抗生素，并已用于临床。由于新抗生素的出现，过去认为病毒对（原有）抗生素无效的说法已不复存在。尽管有了包括抗生素在内的不少抗病毒药物，但真正有效的药物不多，特别是病毒对某些药物产生了一定程度的耐药性，而且对潜伏性病毒感染目前尚无法治疗。所以，对付传染性疾病的最佳办法仍然是贯彻以预防为主的方针，重视消毒与灭菌，提高人类健康水平。

（黄　敏）

第二十三章　呼吸道感染病毒

呼吸道是生物体进行肺呼吸时气流所经过的通道，也是多种病原体侵入机体的重要途径。呼吸道感染病毒（respiratory viruses）是指以呼吸道作为主要感染或传播途径的病毒，它包括的病毒种类比较多，如正黏病毒科、副黏病毒科、冠状病毒科、小RNA病毒科、呼肠病毒科、披膜病毒科和腺病毒科的多种病毒，近年还出现了禽流感病毒、SARS冠状病毒和人偏肺病毒等（表23-1）。

表23-1　引起呼吸道感染的常见病毒及其所致的主要疾病

病毒的分科	病毒的种类	引起的主要疾病
正黏病毒科	流感病毒	流行性感冒
副黏病毒科	麻疹病毒	麻疹
	腮腺炎病毒	流行性腮腺炎
	呼吸道合胞病毒	婴儿支气管炎、细支气管肺炎
	副流感病毒	普通感冒、细支气管肺炎
	人偏肺病毒	婴幼儿呼吸道感染
	亨德拉病毒和尼派病毒	高致死性、急性传染性脑炎
冠状病毒科	冠状病毒	普通感冒及上呼吸道感染
	SARS冠状病毒	严重急性呼吸综合征（SARS）
披膜病毒科	风疹病毒	风疹、先天性风疹综合征
小RNA病毒科	鼻病毒	普通感冒、急性上呼吸道感染
腺病毒科	腺病毒	小儿肺炎、流行性角膜炎
呼肠病毒科	呼肠病毒	轻度上呼吸道疾病

由病毒引起的呼吸道感染很常见，约占急性呼吸道感染的90%～95%。多数呼吸道感染病毒的传染性都很强，比如甲型流感病毒可在短短的几个月时间内传遍全世界，而麻疹病毒易感者接触传染源后几乎全部都要发病。由于引起呼吸道感染病毒的种类繁多，常具有“一病多因”和“多病同因”的特点，所以本章主要介绍流感病毒、麻疹病毒和SARS冠状病毒，而对其他呼吸道感染病毒只做概括描述。呼吸道病毒感染多属于黏膜表面感染，一般都不侵入血液，病后不易获得牢固的免疫力，因此呼吸道感染容易反复发生，而且目前尚无较好的疫苗和药物来防治呼吸道感染病毒。可见呼吸道感染病毒对人类健康的威胁很大，必须引起高度重视。

此外，胃肠道感染病毒的柯萨奇病毒、疱疹病毒Ⅰ型等也可以引起呼吸道感染。由于它们的主要感染或传播途径不是呼吸道，所以不把它们归类于呼吸道感染病毒。

Viruses associated with respiratory infections（respiroviruses）are mainly transmitted through respiratory tract. There are many species of viruses associated with respiratory infections. These viruses belong in different virus families, such as Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Coronaviridae, Togaviridae, Picornaviridae, and Adenoviridae.

Respiratory illnesses are responsible for more than half of all acute illnesses, and about 90% to 95%

of respiratory acute illnesses are caused by viruses. The communicability of respiratory infection by viruses is very strong. These viruses frequently cause worldwide epidemics and sometimes cause high mortality, for example, influenza has been responsible for millions of deaths worldwide.

The Orthomyxoviridae (influenza viruses) is a major determinant of morbidity and mortality caused by respiratory disease. Mutability and high frequency of genetic reassortment and resultant antigenic changes in the viral surface glycoproteins make influenza viruses formidable challenges for control efforts. Three immunologic types of influenza viruses are known and designated as type A, B, and C. Antigenic changes continually occur within the type A influenza virus, so it is responsible for most cases of epidemic influenza. Type B influenza virus causes epidemic occasionally. Type C appears to be antigenically stable, and causes only mild illness in immune compromised individuals.

The Paramyxoviridae includes seven genera, six of which contain human pathogenic viruses, and all are antigenically stable. The paramyxoviruses are the most important agents of respiratory infections of infants and young children (respiratory syncytial virus and the parainfluenza viruses) as well as the causative agents of the most common contagious diseases of childhood (mumps and measles). The World Health Organization (WHO) estimates that acute respiratory infections and pneumonia are responsible every year worldwide for the deaths of 4 million children under 5 years of age. Paramyxoviruses are the major respiratory pathogens in this age group. All members of the Paramyxoviridae family initiate infection via the respiratory tract. Replication of the respiratory pathogens is limited to the respiratory epithelia, whereas measles and mumps become disseminated throughout the body and produce generalized disease.

Measles is an acute, highly infectious disease characterized by fever, respiratory symptoms, and a maculopapular rash. Complications are common and may be quite serious. The introduction of an effective live-virus vaccine has dramatically reduced the incidence of this disease worldwide, but measles is still a leading cause of death of children in many developing countries. Mumps is an acute contagious disease characterized by nonsuppurative enlargement of one or both salivary glands. Mumps virus mostly causes a mild childhood disease, but in adults complications including meningitis and orchitis are fairly common. More than one-third of all mumps infections are asymptomatic. Respiratory syncytial virus (RSV) is the most important cause of lower respiratory tract illness in infants and young children, usually outranking all other microbial pathogens as the cause of bronchiolitis and pneumonia in infants under 1 year of age. It is estimated that approximately 25% of pediatric hospitalizations are due to respiratory disease. There are five type parainfluenza viruses, which are ubiquitous and cause common respiratory illnesses in persons of all ages. They are major pathogens of severe respiratory tract diseases in infants and young children. Parainfluenza virus replication is limited to respiratory epithelia, infection may involve only the nose and throat, resulting in a harmless "common cold". Human metapneumovirus is a respiratory pathogen first described in 2001. It was detected using a molecular (polymerase chain reaction, PCR) approach on clinical samples from children with respiratory illnesses but with negative viral test results. It appears to be widespread, with 100% seroprevalence in young adults and older persons. Human metapneumovirus is able to cause a wide range of respiratory illnesses from mild upper respiratory symptoms to severe lower respiratory tract disease. In general, symptoms are similar to those caused by respiratory syncytial virus. Hendra virus and Nipha virus are the new members of paramyxoviruses. The natural reservoir of both viruses appear to be fruit bats. Both viruses can cause epidemic fatal respiratory infection disease.

Coronaviruses are large, enveloped RNA viruses. The human coronaviruses cause common colds and have been implicated in gastroenteritis in infants. A novel coronavirus was identified as the cause of a worldwide outbreak of a severe acute respiratory syndrome (SARS) in 2003. Coronaviruses of lower

animals establish persistent infections in their natural hosts. The human viruses are difficult to culture and therefore are more poorly characterized. In contrast, the outbreak of SARS in 2003 was characterized by serious respiratory illness, including pneumonia and progressive respiratory failure. In all likelihood, the SARS virus originated in a nonhuman host and acquired the ability to infect humans. Chinese horseshoe bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. In rural regions of southern China, where the outbreak began, people, pigs, and domestic fowl live close together and there is widespread use of wild species for food and traditional medicine—conditions that promote the emergence of new viral strains.

Rubella virus, though classified as a togavirus because of its chemical and physical properties, can be considered the paramyxoviruses on an epidemiologic basis. Rubella (German measles, 3-day measles) is an acute febrile illness characterized by a rash and lymphadenopathy that affects children and young adults. It is the mildest of common viral exanthems. However, infection during early pregnancy may result in serious abnormalities of the fetus, including congenital malformations and mental retardation. The consequences of rubella in utero are referred to as the congenital rubella syndrome.

Rhinovirus belongs to Picornaviridae. There are more than 114 serotypes of rhinoviruses, which are the most frequent pathogen for common cold.

Adenoviruses can replicate and produce disease in the respiratory, gastrointestinal, and urinary tracts as well as in the eye. Many adenovirus infections are subclinical, and virus may persist in the host for months. About one-third of the 51 known human serotypes are responsible for most cases of human adenovirus disease. A few types serve as models for cancer induction in animals. Adenoviruses are especially valuable systems for molecular and biochemical studies of eukaryotic cell processes.

Reovirus is classified as Reoviridae. Reovirus is medium-sized with double-stranded, segmented RNA virus, which can cause respiratory and gastrointestinal diseases.

第一节　正黏病毒

正黏病毒（Orthomyxoviridae）是指对人或某些动物细胞表面的黏蛋白（mucin）有高度亲和性、具有分节段RNA基因组的一类包膜病毒。正黏病毒包膜上有血凝素（hemagglutinin，HA）和神经氨酸酶（neuraminidase，NA）两种刺突，病毒通过HA与宿主细胞表面的唾液酸受体结合。正黏病毒只有流行性感冒病毒（influenza virus）一个种，简称流感病毒，但包括人流感病毒和动物流感病毒。

流感病毒是流行性感冒（influenza，简称流感）的病原体。流感病毒的主要特点是病毒呈球形或丝形，核酸为分节段的单负链RNA病毒（-ssRNA），抗原容易发生变异。根据人流感病毒的抗原性，可分为甲、乙、丙三型，其中甲型流感病毒特别容易发生变异，曾多次引起流感世界性大流行，造成数以千万计的人口死亡；而乙型流感病毒的抗原变异性较小，通常只引起流感的局部暴发；丙型流感病毒的抗原稳定，且致病力较弱，主要侵犯婴幼儿和免疫力低下的人群。

一、生物学性状

流感病毒与其他RNA病毒在生物学性状方面的主要区别在于流感病毒核酸分节段、病毒的转录和复制在细胞核中进行，核蛋白在此过程中起着重要作用。

（一）形态与结构

培养的流感病毒多数呈球形，而新分离的流感病毒呈多形态性（pleomorphic），以丝形多见（图23-1）。球形病毒颗粒直径为80～120nm，而丝状则长短不一，有时可长达2～4μm。流感病毒的结构由核心和包膜两部分组成，其结构模式见图23-2。

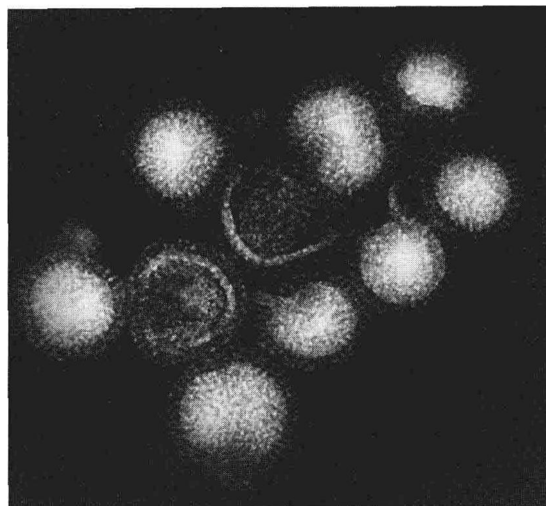


图23-1 流感病毒的形态（×315000）
（Brooks et al，2004）

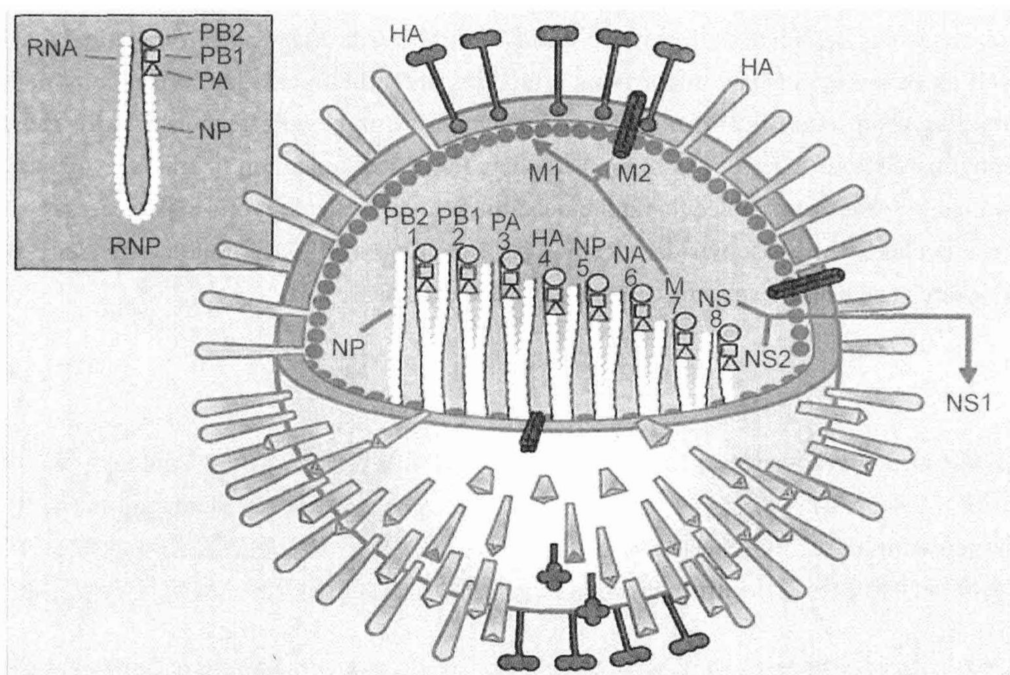


图23-2 流感病毒结构模式图

1. 核心　流感病毒的核心由分节段的单负链RNA（-ssRNA）、与其结合的核蛋白（nucleoprotein，NP）和RNA多聚酶（包括PA、PB1和PB2三个亚基）组成，共同形成核糖核蛋白（ribonucleoprotein，RNP），即核衣壳。甲型和乙型流感病毒RNA分为八个节段，各片段长度在890～2341核苷酸范围，总长度为13600核苷酸；丙型流感病毒RNA分七个节段，缺少编码神经氨酸酶的基因。每个片段两端的12～13个核苷酸均为保守序列（各型流感病毒之间略有差异），在病毒的转录中起着重要作用。核酸的多数节段只编码一种蛋白质（表23-2），其中NP由第五节段编码，M1蛋白由第七节段编码，它们的组成和结构比较稳定，具有型特异性，是流感病毒分型的重要依据。流感病毒核酸分节段的结构特点使其具有较高的基因重配频率，因而其抗原性容易发生变异，并导致新亚型病毒的出现。

表23-2　流感病毒基因片段与编码的蛋白及功能

基因节段	核苷酸数	编码的蛋白质	病毒体所含分子数	蛋白质功能
1	2341	PB2		
2	2341	PB1	30～60	RNA聚合酶组分
3	2233	PA		
4	1778	HA	500	血凝素，为包膜糖蛋白，介导病毒吸附，酸性情况下介导膜融合
5	1565	NP	1000	核蛋白，为病毒衣壳成分，参与病毒转录和复制
6	1413	NA	100	神经氨酸酶，促进病毒释放
7	1027	M1	3000	基质蛋白，促进病毒装配
		M2	20～60	膜蛋白，为离子通道，促进病毒脱壳
8	890	NS1	0	非结构蛋白，抑制mRNA前体的拼接
		NS2	130～120	非结构蛋白，帮助RNP的核输出

2. 包膜　流感病毒的包膜分为两层。包膜内层为基质蛋白1（matrix protein，M1），包膜外层主要来自宿主细胞的脂质双层膜，表面分布着呈放射状排列的两种刺突，即血凝素（HA）和神经氨酸酶（NA）。它们的长度约10nm，成分为糖蛋白，两者的数量比例为5∶1。此外，流感病毒包膜外层上还分布有基质蛋白2（M2），它具有离子通道的作用，可使膜内pH值下降，有助于病毒进入感染细胞。每个病毒颗粒上M2蛋白的数量少，只有几十个拷贝。

（1）M1蛋白：M1蛋白由第七节段核酸编码，位于包膜的内层。每个病毒体有大约3000分子M1蛋白，占病毒蛋白的40%，具有保护核心和维持病毒形态的作用。M1蛋白抗原性稳定，具有型特异性，但其诱生的抗体没有中和流感病毒的能力，所以不具有保护作用。

（2）HA：HA由第四节段编码，呈柱形，由三条糖蛋白链以非共价键形式连接成三聚体。流感病毒HA的原始肽链称为HA_0，含566个氨基酸，信号肽位于氨基端，它必须被裂解成HA_1和HA_2后才具有感染性。裂解HA_0的蛋白酶只存在于呼吸道，所以决定了流感病毒的感染部位在呼吸道。HA_1含328个氨基酸，是流感病毒与呼吸道黏膜细胞膜表面的唾液酸（SA）受体结合的亚单位。HA_2含222个氨基酸，其羧基端位于膜内，具有膜融合活性，是流感病毒侵入宿主细胞所必须要的成分。每个病毒体约有500分子HA，占病毒蛋白的25%。HA抗原性极易变异，具有亚型特异性。

HA具有三种主要功能，一是在其三聚体球形头部形成“口袋”（pocket），能与易感细胞表面的唾液酸受体结合，并介导病毒包膜与细胞膜的融合，释放病毒核衣壳进入细胞浆；二是能与鸡和豚鼠等动物以及人的红细胞表面的唾液酸受体结合而出现血凝现象，故被称为“血凝素”，所以可通过血凝试验检测流感病毒的有无；三是针对中和抗体的抗原决定簇都在HA上，所以HA诱生的抗体可中和相同亚型流感病毒，具有保护作用。该抗体还可抑制流感病毒与红细胞的凝集，可通过血凝抑制试验（HI）可测定机体产生的抗流感病毒抗体，以及鉴定甲型流感病毒亚型。

（3）NA：NA由第六节段核酸编码，由四条糖蛋白链组成纤维状的四聚体。NA的头部呈扁球状或蘑菇状，每个单体的头部都有一个神经氨酸酶的活性中心；NA的末端镶嵌于包膜的脂质膜中。每个病毒体有100分子NA，占病毒蛋白的5%。NA的抗原性容易变异，具有亚型特异性。

NA具有两种主要功能，一是具有神经氨酸酶活性，能水解宿主细胞表面糖蛋白末端的*N*-乙酰神经氨酸，有助于成熟病毒的释放，促进流感病毒扩散，所以NA的作用发挥在病毒复制周期的终末阶段；二是具有抗原性，能诱导机体产生抗体，该抗体能降低病毒的扩散，有一定的保护作用，还可帮助鉴定流感病毒亚型，但不能中和流感病毒。另外，NA还可降低呼吸道黏膜表面黏液层的黏度，有利病毒与呼吸道黏膜上皮细胞的吸附。

（二）病毒的复制

流感病毒的转录和复制是在细胞核中进行的，而且病毒复制的速度比较快，一个复制周期约8～10小时，病毒复制的基本过程见图23-3。病毒通过HA吸附到易感细胞表面糖蛋白末端的唾液酸（亦称神经氨酸）上，细胞通过一个被称作“受体介导的吞饮”（receptor-mediated endocytosis）过程，使病毒进入细胞内并形成内体（endosome）。内体通过M2蛋白的酸化作用（pH5～6），引起HA的构型发生改变，使HA_2介导病毒包膜与内体膜产生融合，以致病毒脱壳，RNP进入细胞质并移行至细胞核内。在病毒复制的早期，通过依赖RNA的RNA多聚酶（PB2、PB1和PA）的作用，以病毒RNA（vRNA）为模板，由PB2切割宿主细胞mRNA 5’端约10～15个核苷酸帽状结构为引物，在PB1催化下转录出病毒mRNA，并形成在3’端带有poly（A）尾的mRNA后进入胞浆，再翻译出相应的病毒蛋白。而vRNA的复制在细胞核中分两步进行，第一步是以vRNA为模板合成全长的正链RNA（+RNA），第二步是以+RNA为模板合成子代病毒RNA，此过程中PB2、PB1和PA是必不可少的成分。子代病毒RNA与多聚酶和NP结合，装配成RNP进入胞浆。HA和NA合成后在内质网和高尔基体被糖基化，分别形成三聚体和四聚体，最后被运送到细胞膜表面。M1蛋白发挥桥梁作用，将RNP结合到嵌有HA、NA和M2蛋白的细胞膜内侧，然后以出芽的方式释放子代病毒颗粒。

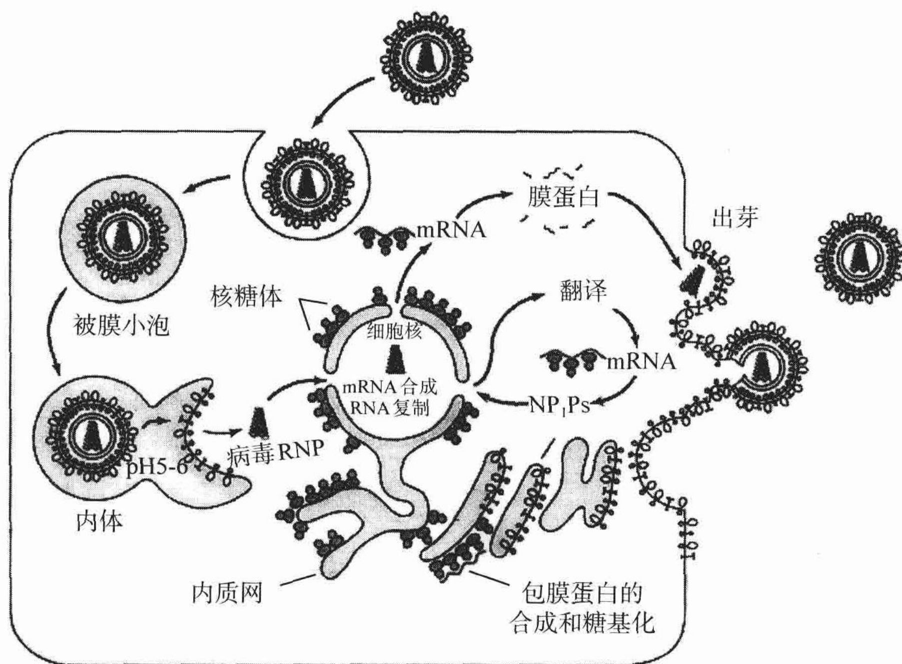


图23-3 流感病毒复制过程示意图
（Brooks et al，2004）

（三）分型与变异

根据流感病毒NP和M1蛋白抗原性的不同，将人流感病毒分甲（A）、乙（B）、丙（C）三型。甲型流感病毒再根据HA和NA的抗原性的不同分为若干亚型，目前HA包括H_1～H_{16}亚型，NA包括N_1～N_9亚型，而所有的这些亚型均存在于禽类，所以可以把禽类的流感病毒理解为人类流感病毒的“储存库”。乙型和丙型流感病毒至今尚未分亚型。甲型流感病毒的HA和NA均容易发生变异，但以HA尤为突出，所以容易在人群中引起流感大流行，已在人群中流行过的亚型是H_1～H_3和N_1～N_2。而乙型与丙型流感病毒的抗原性较稳定，较少发生变异，也不容易引起流感的大流行。

流感病毒容易发生变异，其变异除基因内部发生局部变异外，还因为核酸分节段，容易发生基因重配（gene reassortment）。流感病毒容易发生抗原性变异和温度敏感性变异，抗原性变异容

易导致新亚型病毒株的形成，温度敏感性变异有利流感疫苗制备。流感病毒的抗原变异有两种形式：①抗原性漂移（antigenic drift）：指抗原的变异幅度小，HA和NA氨基酸的变异率小于1%，属于量变。这种变异是由病毒基因点突变引起的，而人群的免疫力起了选择的作用，所以不会引起流感的大规模流行，仅引起中、小规模流行。②抗原性转换（antigenic shift）：指抗原变异幅度大，HA或NA氨基酸的变异率为20%～50%，属质变，常形成新的亚型（如$H_1N_1 \rightarrow H_2N_2$，或$H_2N_2 \rightarrow H_3N_2$）。这种变异是由点突变积累或基因重配引起的，如果由基因点突变积累引起的，一般需要30年左右才会出现新的亚型；如果是由基因重配引起的，则只需10年左右就会出现新的亚型。由于人群对抗原性转换后出现的新亚型病毒缺少免疫力，所以往往会引起流感的全球性大流行。

人流感病毒的新亚型病毒株均来源于禽类（特别是水禽类），如1918年流行的H_1N_1流感病毒株的八个节段均来自禽类，而2009年流行的H_1N_1流感病毒株有五个片段来源于猪，两个片段来源于禽类，一个片段来源于人。猪和某些哺乳动物在流感病毒新亚型的产生上起着关键作用，因为猪气管上皮细胞带有人流感病毒和禽或某些哺乳动物流感病毒的两类受体。人流感病毒的受体是人气管上皮细胞表面的唾液酸-α-2、6-半乳糖-β1、4-葡萄糖（SA-α-2、6-gal-β1、4-glu），多数禽类和马流感病毒的受体是鸡鸭肠上皮细胞和马气管上皮细胞表面的唾液酸-α-2、3-半乳糖-β1、4-葡萄糖（SA-α-2、3-gal-β1、4-glu），而猪气管上皮细胞表面具有这两类唾液酸，猪既可以被人流感病毒感染，也可以被禽和马流感病毒感染。当两类流感病毒同时感染猪时，就可能导致流感病毒基因重配的发生，引起新亚型流感病毒株的出现，暴发流感的大流行。甲型流感病毒已在历史上引起过多次世界性大流行（表23-3），故流感病毒是严重危害人类健康的病原体之一。

表23-3　甲型流感病毒在不同流行年代的表面抗原变化

亚型名称	亚型抗原	病毒代表株*	流行年代
原甲型	H_0N_1#	A/PR/8/34，可能为猪流感病毒	1918
亚甲型	H_1N_1	A/FM/1/47	1947
亚洲甲型	H_2N_2	A/Singapore/1/57	1957
香港甲型	H_3N_2	A/Hongkong/1/68	1968
香港甲型与新甲型	H_3N_2，H_1N_1	A/USSR/90/77	1977
甲型H_1N_1	H_1N_1	?	2009

* 病毒代表株命名法：型别/分离地点/病毒株编号/分离年代（HA和NA亚型）；# 当时认为是H_0N_1，后经血清学试验证实为H_1N_1

从以上流感病毒的受体来分析，禽流感病毒病是不会直接感染人的。但是，从1997年香港发生了首次禽流感病毒直接感染人的报道后，类似情况的报道逐渐增多，涉及的流感病毒亚型包括H_5N_1、H_7N_7和H_9N_2，其致病机制目前尚不清楚，但由此打破了禽流感病毒不直接传染人的传统观念，向人类提出了严峻挑战。目前认为感染人的禽流感病毒还只能通过人直接与病禽接触而受染，但如果禽流感病毒与人流感病毒进行基因重配，则有可能形成在人与人之间直接传播的新病毒株，那将会给人类健康带来更严重的危害。

（四）培养特性

病毒分离培养的三种方式都可用于培养流感病毒。如果采用动物接种培养流感病毒，最敏感的动物是雪貂。流感病毒也可用小鼠培养，而且流感病毒在小鼠体内连续传代后其毒力可增强。培养流感病毒最常用的方法是鸡胚培养，流感病毒可在鸡胚尿囊腔及羊膜腔中生长繁殖，初次分离以羊膜腔接种为宜，传代培养则采用尿囊腔接种。流感病毒增殖后不引起鸡胚明显的病理改变，所以需要进行血凝试验（hemagglutination test）测定流感病毒效价。还可用组织细胞培养流感病毒，常用的细胞为狗肾传代细胞（MDCK）和猴肾细胞（PMK），但流感病毒增殖后引起的CPE不明显，所

以常需用红细胞吸附试验或免疫荧光方法来证实流感病毒的存在。

（五）抵抗力

流感病毒的抵抗力较弱，56℃ 30分钟即被灭活。室温下病毒的传染性很快丧失，0～4℃能存活数周，－70℃以下可长期保存。流感病毒对干燥、日光、紫外线、乙醚、甲醛和乳酸等理化因素也比较敏感。

二、致病性与免疫性

（一）致病性

流感病毒的传染源主要是急性期患者，其次是隐性感染者，而部分动物（特别是猪）也可能是传染源。流感病毒经飞沫和气溶胶传播，所以传染性很强。流感病毒通过HA与呼吸道黏膜上皮细胞表面的唾液酸受体结合，并在呼吸道上皮细胞内增殖，一般不会侵入血液。病毒增殖后引起上皮细胞的空泡变性和纤毛丧失，并向邻近细胞扩散，最终导致上皮细胞坏死脱落，使呼吸道黏膜的屏障功能丧失。NA可水解呼吸道黏膜表面保护性黏液层中黏蛋白的唾液酸残基，降低黏液层的黏度，使细胞表面受体暴露，有利于病毒的吸附。另外，流感病毒侵入后可刺激机体产生干扰素和免疫细胞释放淋巴因子，引起呼吸道黏膜组织的炎症反应。流感的流行季节有较明显的地区性，北方以冬季为主，南方则四季都可发生，但以夏季和冬季为高峰期。人群对流感病毒普遍易感，大约有50%的感染者没有任何症状。

流感的潜伏期一般为1～4天。患者起病急，表现为畏寒、发热、头痛、全身肌肉酸痛等全身症状，伴有鼻塞、流涕和咳嗽等呼吸道症状。发热可达38～40℃，持续1～5天，平均为3天。小儿发烧的温度比成人高，可导致抽搐或谵妄；呕吐、腹痛和腹泻也较常见。由于流感病毒和坏死组织的毒素样物质可侵入血液，所以流感的临床表现一般是全身症状重而呼吸道症状轻。流感属于自限性疾病，若无并发症发生的患者通常在5～7天后即可恢复。年老体弱、免疫力低下和婴幼儿等流感患者易出现并发症，一是继发金黄色葡萄球菌、肺炎双球菌和流感嗜血杆菌等细菌感染性肺炎；二是并发原因不明的急性脑病，即Reye综合征。

流感病毒已引起过多次世界性大流行，有数千万人死于流感，其中最厉害的一次是1918～1919年的流感大流行。当时全世界的人口只有20亿，约有50%的人口被感染，死亡人数达2000万以上，超过第一次世界大战死亡的总人数。从1977年以来，出现了甲3型（H3N2）和甲1型（H1N1）同时流行，更加重了流感病毒对人类健康的危害。1997年，香港地区出现禽类流感病毒（H5N1）传染给人，并引起少数患者死亡；目前禽流感病毒对人的感染已有全球化趋势，而且人感染后死亡率较高，需要高度重视。2009年3月，墨西哥暴发流感新疫情，造成多名患者死亡，又一次全球性流感开始大流行。我国将甲型H1N1流感纳入《中华人民共和国传染病防治法》规定的乙类传染病进行预防和控制。

（二）免疫性

人体感染流感病毒后可产生特异性的体液免疫和细胞免疫。抗HA抗体为中和抗体，包括IgM、IgG和SIgA，在抵抗感染中起主要作用，特别是SIgA在预防感染和阻止流感发生中具有重要作用，一般能维持1～2年。血清中抗HA抗体对亚型内变异株的交叉免疫可持续4～7年，但亚型间无交叉免疫保护作用，所以新亚型流感病毒出现时容易引起大规模流行。抗NA抗体虽对流感病毒无中和作用，但可减少流感病毒的释放和扩散，并降低流感病情的严重性，故也有一定保护作用。抗流感病毒其他蛋白的抗体没有保护作用。

抗流感病毒的细胞免疫主要包括$CD4^+$T和$CD8^+$T淋巴细胞。流感病毒特异性的$CD4^+$ T淋巴细胞，能辅助B淋巴细胞产生抗流感病毒的抗体。$CD8^+$T淋巴细胞能溶解流感病毒感染的细胞，阻止病毒在细胞内增殖，有利于病毒的清除和疾病的恢复。值得一提的是$CD8^+$T细胞可产生广泛的亚型间交叉免疫作用，有助于抵抗不同亚型流感病毒株的感染。

三、微生物学检查法

在流感流行期间，根据典型的临床症状就可以初步诊断，但确诊或流行监测、特别是对新变异株的监测，则有赖于实验室检查。流感病毒感染的微生物学检查主要包括以下三个方面。

（一）病毒的分离与鉴定

分离培养和鉴定流感病毒是确诊流感的基本方法。通常是取急性期患者咽漱液或咽拭子，经抗生素处理后接种鸡胚羊膜腔或尿囊腔中，经35℃培养3～4天，取羊水或尿囊液做血凝试验检测流感病毒的有无。如果获得阳性结果，需再进一步用血凝抑制试验（hemagglutination inhibition，HI）及神经氨酸酶抑制试验确定病毒亚型。也可用培养的组织细胞（如MDCK或PMK）分离病毒，但细胞病变效应（CPE）不明显，常需用血球吸附试验或免疫荧光技术测定有无流感病毒。

（二）血清学诊断

采集患者急性期（发病5日内）和恢复期（病程2～4周）双份血清，在相同条件下做HI试验。凡恢复期抗体效价有4倍或4倍以上增高时，具有诊断意义。进行血清学诊断时需要注意以下三点：①正常血清中往往存在非特异性抑制物，为了避免其对HI结果的干扰，受试血清宜先用胰蛋白酶处理除去抑制物后再进行血凝抑制试验；②用于HI试验的病毒应该是与当时流行密切相关的病毒株；③HI试验的早期诊断价值有限。HI试验还可用于甲型流感病毒亚型的鉴定。补体结合试验（CF）也可用于血清中抗流感病毒抗体的检测，由于补体结合抗体出现早，消失也快，故补体结合试验阳性可作为新近感染的指标。

（三）快速诊断

流感的快速诊断包括检测病毒抗原和病毒核酸，可在感染24～72小时内就做出辅助诊断。前者是指用免疫荧光或ELISA方法，检测呼吸道分泌物、脱落细胞中的流感病毒抗原；后者是指用RT-PCR和核酸杂交等方法检测流感病毒核酸，以及用核酸序列分析进行分型和亚型鉴定。

四、防治原则

流感病毒容易变异，加之流感的传染性强，传播迅速，容易造成大流行，故切实做好预防工作十分重要。在流感流行期间，应尽量减少人群聚集，公共场所的空间可用1∶10乳酸水溶液进行熏蒸消毒，还应及早发现和隔离流感患者。

流感疫苗接种是预防流感最有效的方法，目前使用的流感疫苗有灭活疫苗与减毒活疫苗两种，但以灭活疫苗为主。1941年美国首先批准使用鸡胚培养的流感病毒灭活疫苗，其优点是皮下注射后可产生高滴度IgG，维持时间较长，副作用小；缺点是呼吸道局部产生的SIgA少，维持时间短，需多次接种。1980年有了流感病毒裂解疫苗和亚单位疫苗，近年还有了鼻腔喷雾接种的减毒活疫苗（为温度敏感变异株，最适生长温度为25℃）。用于制备流感疫苗的病毒株必须选用当时流行的病毒株，也可在WHO的推荐和指导下进行疫苗制备，如现在常规使用的流感疫苗就是在WHO指导下制备的，包括了当前在人群中流行的H3N2和H1N1两种甲型流感病毒株，以及一种乙型流感病毒株，即三价灭活疫苗。

对流感的治疗尚无特效方法，常用的金刚烷胺（amantadine）和金刚乙胺（rimantadine）是M2离子通道的一种抑制剂，可以阻止流感病毒的穿入和脱壳，具有预防和治疗甲型流感病毒感染的作用，但它们对其他型别的流感病毒无效，而且具有较高的耐药率。核苷类抗病毒药物利巴韦林（ribavirin）具有广谱的抗病毒作用，对病毒的抑制能力也强，但存在较严重的安全风险。新的抗流感病毒药物奥司他韦（oseltamivir）和扎那米韦（zanamivir）是神经氨酸酶抑制剂，对甲型和乙型流感均有效，但价格昂贵，而且也已经有耐药病毒株的出现。所以对流感患者的治疗多是对症处理，也常选用干扰素和中草药，以及一些抗生素，以预防继发性细菌感染。

第二节 副黏病毒

副黏病毒（Paramyxoviridae）是与正黏病毒生物学性状很相似的一组病毒，两者的主要性状比较见表23-4，主要表现在以下四个方面：①副黏病毒的核酸不分节段，变异频率相对低一些；②包膜表面的主要刺突为血凝素/神经氨酸酶（HN）和融合蛋白（F），但不同副黏病毒的刺突有所差别（图23-4和表23-5）；③副黏病毒的种类相对较多，目前包括麻疹病毒属（*Morbillivirus*）、副黏病毒属（*Paramyxovirus*）、肺病毒属（*Pneumovirus*）和亨德拉尼派病毒属（*Henipavirus*）的多种病毒。可引起人类感染的主要副黏病毒有麻疹病毒（measles virus）、腮腺炎病毒（mumps virus）、呼吸道合胞病毒（respiratory syncytial virus，RSV）、副流感病毒（parainfluenza virus），以及近年新发现的人偏肺病毒（human metapneumovirus）、亨德拉病毒（hendra virus）和尼派病毒（nipah virus）；④副黏病毒的致病力相对较弱，感染的对象以婴幼儿和儿童为主，但其中部分病毒的传染性很强。

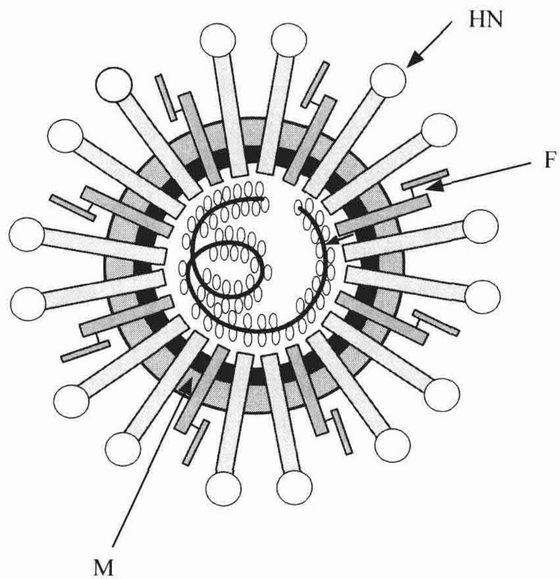


图23-4 副黏病毒主要结构蛋白示意图
M：膜蛋白；F：融合蛋白；HN：血凝素-神经氨酸酶
（Brooks et al，2004）

表23-4 正黏病毒与副黏病毒的主要性状比较

生物学特性	正黏病毒	副黏病毒
病毒形态	球形或丝形，直径80～120 nm，有包膜	多形态性，直径150～300 nm，有包膜
基因组	单负链RNA，13.6 kb，分节段，变异频率高	单负链RNA，16～20 kb，不分节段，变异频率低
核衣壳形成部位	细胞核	细胞质
凝血作用	有	有
溶血作用	无	有
唾液酸受体	亲和	亲和
刺突	HA和NA	F为副黏病毒共有，HN因病毒种类而异
鸡胚培养	生长良好	多数生长不佳

表23-5 主要副黏病毒刺突的差别

病毒	血凝素	神经氨酸酶	融合蛋白
麻疹病毒	+	−	+
腮腺炎病毒	+	+	+
呼吸道合胞病毒	−	−	+
副流感病毒	+	+	+

一、麻疹病毒

麻疹病毒（measles virus）是麻疹（measles）的病原体。麻疹是儿童时期最常见的一种急性传染病，其传染性很强。麻疹的临床表现包括发热、呼吸道卡他症状和全身斑丘疹等。如不发生并发

症，患者预后良好。据WHO的资料，每年全世界大约有1.3亿儿童患麻疹，导致700万～800万儿童死亡，是发展中国家儿童死亡的一个主要原因。自麻疹减毒活疫苗应用以来，麻疹发病率显著下降，WHO已将消灭麻疹列为消灭脊髓灰质炎后的下一个主要目标。

（一）生物学性状

1. 形态结构　麻疹病毒为球形或丝形，直径约120～150nm，有包膜。核衣壳呈螺旋对称，核心为不分节段的单负链RNA，基因组全长16kb，从3'端开始依次为N、P、M、F、HA和L六个基因，分别编码核蛋白（nucleoprotein，NP）、磷酸化蛋白（phosphoprotein，P）、膜蛋白（membrane protein，M）、融合蛋白（fusion protein，F）、血凝素（hemagglutinin，HA）和依赖RNA的RNA聚合酶（large polymerase，L）等六种结构和功能蛋白。

病毒包膜表面有两种刺突，即HA和溶血素（hemolysin，HL），但没有神经氨酸酶。HA和HL均为糖蛋白，能刺激机体产生具有保护作用的中和抗体。HA参与病毒吸附，可与宿主细胞表面的病毒受体结合，并能凝集猴红细胞。HL具有溶血作用，可使感染细胞融合形成多核巨细胞。

2. 培养特性　麻疹病毒能在多种原代或传代细胞中增殖，如人胚肾、人羊膜、Vero、HeLa等细胞均可用于麻疹病毒培养。病毒增殖后可导致细胞融合，形成多核巨细胞，并在细胞质和细胞核内出现嗜酸性包涵体。

3. 抗原性　麻疹病毒的抗原性稳定，目前只有一个血清型。但是，从20世纪80年代以来，各国均有麻疹病毒抗原小幅度变异的报道，需要引起注意。另外，根据麻疹病毒核蛋白基因C末端高变区或HA全基因序列，可将麻疹病毒分为A～H 8个基因群（genetic group）、23个基因型（genotype）。

4. 抵抗力　麻疹病毒对理化因素的抵抗力较弱，加热56℃ 30分钟即被灭活，对脂溶剂和一般消毒剂敏感，日光和紫外线也能使其灭活。

（二）致病性与免疫性

1. 致病性　人是麻疹病毒唯一的自然宿主（试验感染的动物则有猴子、狗、小鼠），传染源是急性期患者，特别在患者出疹前2～4天至出疹后2～5天内，其传染性最强。主要经飞沫传播，也可经玩具、用具或密切接触传播。易感者为6个月到5岁的儿童，以冬春季发病率最高。麻疹病毒的受体为CD46分子，广泛分布于除人红细胞以外的大多数组织细胞。麻疹病毒经呼吸道侵入人体，与呼吸道上皮细胞表面的受体结合，穿入细胞中增殖，然后扩散至淋巴结中增殖，最后进入血液形成第一次病毒血症。病毒随血液到达全身淋巴组织和单核吞噬细胞系统，大量增殖后再次释放入血，形成第二次病毒血症。由于此时病毒在眼结膜、口腔和上呼吸道黏膜、小血管内皮细胞内均有增殖，患者的临床表现除发热和畏光外，还有鼻炎、眼结膜炎和咳嗽三个主要前驱症状，并在口腔两颊内侧黏膜出现中心灰白、周围红色的特征性Koplik斑，是临床早期诊断麻疹的重要依据。此阶段是麻疹传染性最强的时期，病理改变为多核巨细胞和包涵体的形成。在随后的1～2天，患者全身皮肤相继出现红色斑丘疹，出疹的顺序是先颈部，然后躯干，最后四肢，此阶段是麻疹病情最严重的时期。麻疹患儿在皮疹出齐后进入恢复期，一般在24小时后体温就开始下降，一周左右呼吸道症状消退，皮疹变暗，有色素沉着。麻疹一般可自愈或治愈，但如果患儿抵抗力低下或处理不当，可出现严重的并发症，导致高达25%以上的病死率。最严重的并发症是脑炎（encephalitis），病死率为5%～30%；最常见的并发症是肺炎，可占到麻疹死亡病例的60%；并发症发生的明显信号是患者体温在恢复期不能降至正常或体温再次升高。麻疹病毒感染的自然过程见图23-5。

麻疹病毒感染后，大约有0.1%的患者在病愈一周后发生迟发型超敏反应性疾病，引起脑脊髓炎（meningoencephalitis）。患者常伴有永久性后遗症，病死率达15%；典型的病理改变是脱髓鞘和明显的淋巴细胞浸润。另外，约有0.6/10万～2.2/10万的患者在病愈后5～15年发生迟发并发症——亚急性硬化性全脑炎（subacute sclerosing panencephalitis，SSPE），即渐进性大脑衰退，患者表现为反应迟钝、痴呆、进行性智力降低、癫痫等精神异常，肌肉痉挛和不自主运动等运动障碍。病程一

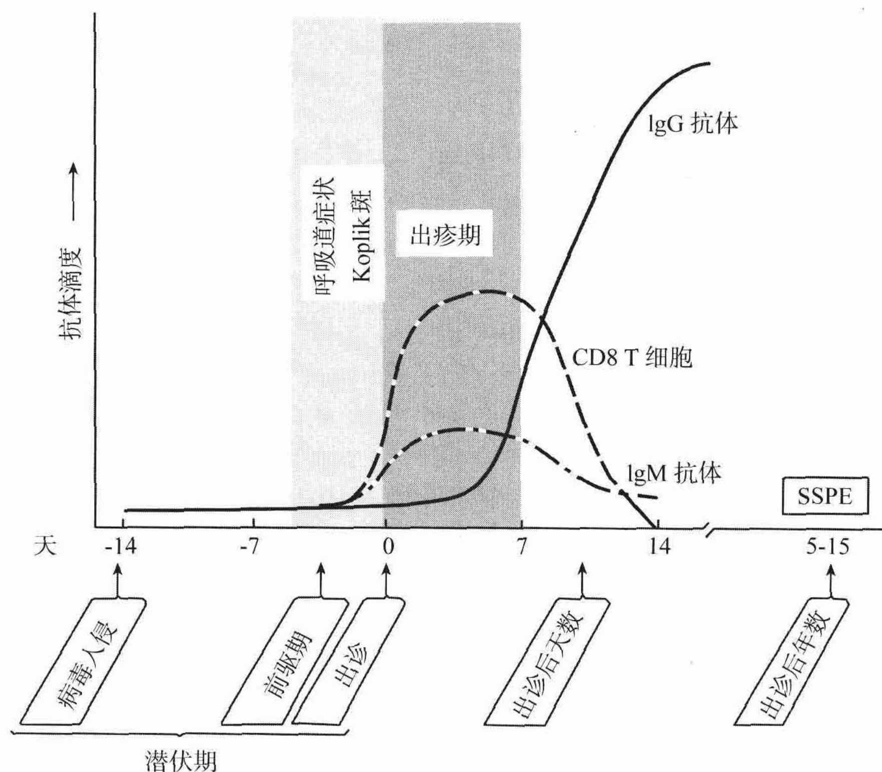


图23-5 麻疹病毒感染的自然过程示意图
（Brooks et al，2004）

般在1～2年，最终导致昏迷死亡。SSPE的发病机制不清楚，患者血液和脑脊液中可检测到高水平抗麻疹病毒抗体，但分离病毒却很困难。现在认为是患者脑组织中的麻疹病毒为缺陷病毒，常见的是M基因的突变，导致不能合成M蛋白，病毒不能进行装配和释放；但如果把患者尸检脑组织与HeLa、Vero细胞共培养，则可以分离出麻疹病毒。

2. 免疫性 麻疹病后可获得持久而牢固的免疫力，包括体液免疫和细胞免疫。感染后机体产生的抗HA和抗HL抗体均具有中和病毒的作用，而且抗HL抗体还能阻止病毒在细胞间的扩散。感染初期以IgM为主，随后以IgG为主。来自母体的IgG抗体可保护婴儿，所以6个月内的婴儿不易感染麻疹病毒。细胞免疫有很强的保护作用，在麻疹恢复期起主导作用，所以细胞免疫缺陷的感染者，会出现进行性麻疹脑炎和巨细胞肺炎，容易导致患者死亡。此外，针对麻疹病毒的细胞免疫也是出疹和麻疹病后脑脊髓炎的发病原因。麻疹病毒感染还可引起短暂的免疫抑制，如OT试验结果可能会由阳性转为阴性。

（三）微生物学检查与防治原则

1. 微生物学检查 典型的麻疹患者根据临床症状即可诊断，仅轻症患者和不典型的感染者需要进行微生物学检查。由于病毒分离和鉴定需要2～3周时间，因而在麻疹的微生物学检查中较少使用，而常用的是血清学诊断。

（1）病毒分离与鉴定：取患者发病早期的咽漱液、咽拭子或血液标本，经抗生素处理后接种人胚肾、人羊膜或猴肾细胞中培养，7～10天后出现多核巨细胞、胞内和核内出现嗜酸性包涵体等典型病变；病毒鉴定常用免疫荧光技术检测病变细胞中的麻疹病毒抗原。

（2）血清学诊断：取患者急性期和恢复期双份血清标本，用HI、CF和NT试验，检测血清中抗麻疹病毒抗体。如恢复期抗体效价有4倍或4倍以上增高即具诊断意义，IgM抗体可以辅助早期诊断。

（3）快速诊断：取患者前驱期或卡他期咽漱液及尿液标本，经离心沉淀脱落细胞，再通过核酸分子杂交或RT-PCR技术，检测脱落细胞中的病毒核酸；也可用免疫荧光方法检测细胞中的病毒抗原。

2. 防治原则 预防麻疹的主要措施包括隔离患者，对儿童进行麻疹疫苗接种，以提高儿童对麻疹的免疫力。目前使用的麻疹疫苗为减毒活疫苗，该疫苗从1963年就开始使用（我国于1965年开始应用），现已从单价疫苗发展为麻疹、风疹、腮腺炎三联疫苗（measles-mumps-rubella vaccine，MMR）。我国计划免疫程序的初次免疫是在8个月龄，学龄前再加强免疫一次。疫苗接种后抗体阳转率达90%以上，免疫力可持续10～15年。对接触麻疹患儿的易感者，可紧急用人丙种球蛋白进行被动免疫，有一定预防效果。治疗上可选用维生素A和利巴韦林等药物，也可选用部分中草药或中成药进行治疗。

二、腮腺炎病毒

腮腺炎病毒（mumps virus）是流行性腮腺炎（epidemic parotitis）的病原体，呈全球性分布。流行性腮腺炎多发于学龄前儿童，但也可见于青年人。本病的临床表现中最突出的特点是一侧或双侧腮腺非化脓性肿大伴触痛，而成人患腮腺炎容易出现脑膜炎和睾丸炎等并发症，但至少有三分之一的腮腺炎病毒感染者没有临床症状。

腮腺炎病毒呈球形，直径100～200nm，核酸为单负链RNA，编码七种结构蛋白，包括核蛋白（NP）、磷酸化蛋白（P）、基质蛋白（M）、融合蛋白（F）、血凝素/神经氨酸酶（HN）、膜相关蛋白（SH）和L蛋白（L）。HN蛋白可诱导机体产生中和抗体，F蛋白有溶血和介导细胞融合形成多核巨细胞的作用。核衣壳呈螺旋对称。腮腺炎病毒只有一个血清型，但用单克隆抗体鉴定已经显示病毒抗原表位有所变异。腮腺炎病毒可用鸡胚羊膜腔接种培养，也可用猴肾细胞培养，能引起细胞融合和形成多核巨细胞等病变。腮腺炎病毒对脂溶剂敏感，加热和紫外线照射均可使病毒灭活。常用低温保存腮腺炎病毒，4℃下可保存3个月，－60℃可保存一年以上。

人是腮腺炎病毒的唯一宿主，传染源是流行性腮腺炎患者和腮腺炎病毒携带者。腮腺炎病毒主要通过飞沫传播，也可通过人与人接触传播。流行性腮腺炎好发于冬春季节，5～14岁儿童为易感者。流行性腮腺炎的潜伏期为1～3周，在病前一周和病后一周内为排病毒高峰期，传染性很强。病毒侵入人体后先在呼吸道上皮细胞和面部局部淋巴结内增殖，随后进入血液引起病毒血症，再扩散至腮腺和其他器官，如睾丸、卵巢、肾脏、胰腺和中枢神经系统等。主要症状为一侧或双侧腮腺肿大，疼痛和触痛明显，颌下腺及舌下腺亦可累及；还有发热、肌痛和乏力等症状。青春期的腮腺炎病毒感染者易出现并发症，男性易并发睾丸炎（约占25%），导致睾丸萎缩和不育；女性易并发卵巢炎，如在怀孕3个月内的孕妇感染，可导致胎儿畸形。无菌性脑膜炎患者的10%～15%是由腮腺炎病毒性引起的，而腮腺炎病毒性脑炎亦较常见。

流行性腮腺炎病后可获得牢固的免疫力，婴儿可从母体获得被动免疫，故6个月以内的婴儿很少患腮腺炎。

临床典型的腮腺炎病例无需做微生物学检查即可作出诊断，对可疑患者应取唾液、尿液或脑脊液做病毒分离培养。腮腺炎病毒在猴肾细胞内增殖后可形成多核巨细胞，但细胞病变一般不明显，所以需用豚鼠红细胞进行血球吸附试验来证实病毒的存在。血清学诊断包括特异性IgM抗体和上升≥4倍的IgG抗体检测。也可用RT-PCR检测腮腺炎病毒核酸。

预防上应及时隔离腮腺炎患者，切断腮腺炎病毒的传播途径。疫苗接种是有效的预防措施，目前使用的是减毒活疫苗，产生的免疫保护作用可维持较长时间。现已有较多的国家使用腮腺炎病毒、麻疹病毒和风疹病毒组成的三联疫苗（MMR），取得了更好的免疫效果。目前尚无治疗腮腺炎特别有效的药物，可用中医的普济消毒饮和连翘败毒散进行治疗。

三、呼吸道合胞病毒

呼吸道合胞病毒（respiratory syncytial virus，RSV）是引起婴幼儿和儿童下呼吸道感染的最主要病原体，在1岁以下婴儿的细支气管炎和肺炎中，RSV位居所有病原体之首，约占因呼吸系统疾病而住院患儿的25%。但在较大的儿童，RSV主要引起上呼吸道感染。

RSV的病毒体呈球形，稍大于其他副黏病毒，直径为125～250nm。核酸为单负链RNA，可编码10种蛋白质，包括三种包膜蛋白（F、G、SH）、两种基质蛋白（M1、M2）、三种衣壳蛋白（N、P、L）和两种非结构蛋白（NS1、NS2）。包膜蛋白G参与病毒吸附，F蛋白介导膜融合，与多核巨细胞的形成有关，而且G蛋白和F蛋白均诱导保护性免疫应答。呼吸道合胞病毒没有HA和NA，不能凝集红细胞。目前认为RSV只有一个血清型（虽然有人用单克隆抗体证实RSV有A、B两个亚型，但临床分离株几乎都是A亚型）。本病毒不能用鸡胚培养，但可用HeLa、Hep-2和人胚肾细胞培养。RSV在细胞中生长较缓慢，大概要培养10天才出现细胞病变。细胞病变的特点是形成多个细胞融合而成的多核巨细胞，胞浆内有嗜酸性包涵体。

呼吸道合胞病毒的抵抗力不强，对热、酸、胆汁以及冻融处理敏感，因此用于病毒分离的标本最好直接接种至培养细胞中，尽量避免冻存处理。

呼吸道合胞病毒主要经飞沫传播，也可经接触污染的手或物品传播，传染性较强，是医院内感染的主要病原体之一。流行季节为冬季和早春，婴幼儿和儿童普遍易感，但小于2个月的婴儿因为有从母亲获得的IgG抗体而很少受到RSV的感染。RSV先在鼻咽部的上皮细胞中增殖，进而扩散至下呼吸道，但不形成病毒血症。潜伏期为4～5天，但排放病毒的时间可持续1～5周。RSV能引起婴幼儿（特别是2～6个月婴幼儿）严重的呼吸道疾病，如细支气管炎和肺炎。发病机制除病毒感染的直接作用外，可能还与婴幼儿呼吸道组织学特性、免疫病理损伤有关。RSV感染常造成呼吸道局部水肿、分泌物增多、引发Ⅰ型超敏反应等，从而阻塞患儿狭窄的呼吸道，容易导致患儿死亡。RSV感染后所诱导机体产生的免疫力不强，母体通过胎盘传给胎儿的抗体维持时间很短，而且在抗病毒抗体存在的情况下，仍有RSV的原发感染和再感染发生。病毒诱生的IgE抗体参与Ⅰ型超敏反应，与细支气管炎的形成有密切关系。

呼吸道合胞病毒所致的疾病与其他病毒和细菌感染所致的疾病是很难区别的，需做微生物学检查才能确诊RSV感染。可以通过病毒分离培养和患者血清中特异性抗体的检查进行诊断，但需要较长的时间才能获得结果，所以不常用。目前常用的方法是通过免疫标记技术，用特异抗体检查鼻咽部脱落细胞中的呼吸道合胞病毒抗原，以及用RT-PCR方法检查病毒核酸进行快速辅助诊断。对RSV感染的治疗主要是采取吸氧、吸痰和选用高效价的抗RSV抗体等支持疗法，至今尚无特异的治疗药物和有效的预防疫苗。

四、副流感病毒

副流感病毒（parainfluenza virus，PIV）是引起婴幼儿严重呼吸道感染的主要病原体之一，在排位上仅次于呼吸道合胞病毒；但若年长儿童和成人感染该病毒，则只引起轻度上呼吸道感染。副流感病毒呈球形，直径为120～200nm；核酸为不分节段的单负链RNA，核衣壳呈螺旋对称。包膜上有HN和F两种刺突，长12～14nm，宽2～4nm。HN蛋白兼有HA和NA的作用，F蛋白具有使细胞融合和溶解红细胞的作用。副流感病毒可用原代上皮细胞培养，也可用传代的猴肾细胞（LL-MK）或狗肾细胞（MDCK）培养。根据抗原性的不同，副流感病毒主要分为四个血清型（PIV 1-4），人类感染的主要型别是PIV 1～3型。

副流感病毒主要通过气溶胶或飞沫传播，也可通过人与人接触传播。病毒侵入人体后仅局限在呼吸道上皮细胞增殖，一般不引起病毒血症。人体感染副流感病毒后的排病毒时间比较长，大约7～10天，但PIV 3的排病毒时间可长达4周。PIV感染的潜伏期为2～6天，感染部位可以只

在鼻咽部，引起"普通感冒"的症状。感染部位也可以是在咽喉部和上呼吸道，引起小儿哮喘和细支气管炎，而病原体以PIV 1～2型多见。病毒也可向呼吸道深部扩散并导致肺炎和细支气管炎，病原体以PIV 3型为主，但这种感染不常发生。婴儿自母体获得的抗副流感病毒的IgG抗体没有保护作用，而副流感病毒感染后在呼吸道产生的SIgA对同型病毒再感染有保护作用，但只能维持几个月，所以再感染比较常见。

副流感病毒感染的微生物学检查包括用细胞分离培养和鉴定病毒；也可取鼻咽部分泌物或脱落细胞标本，用ELISA或免疫荧光快速检测病毒抗原。有关副流感病毒疫苗的研究，已进行过包括灭活疫苗、减毒活疫苗、亚单位疫苗等的探索；由于接种后产生的免疫力有限，所以现在尚无可供常规使用的疫苗。治疗上也没有特别有效的方法，利巴韦林可以用于下呼吸道PIV感染的治疗。也可通过隔离患者、勤洗手等常规措施来降低副流感的医院暴发。

五、人偏肺病毒

人偏肺病毒（human metapneumovirus，hMPV）是荷兰学者Van den Hoogen等2001年从患呼吸道感染婴儿的标本中首次分离到的一种新病毒，也是偏肺病毒属中第一个人类病毒。hMPV具有类似副黏病毒的电镜形态，平均直径为200nm，有包膜和表面蛋白。核酸为单负链RNA，长度为13.4 kb，不分节段，核衣壳为螺旋对称。hMPV在系统发生上分为两个基因型，在血清学上分为两个血清型及四个亚型。hMPV可用TMK和LLC-MK2细胞进行培养，但生长缓慢，所引起的细胞病变与RSV引起的细胞病变极为相似，两者很难区分，通常在接种病毒10～14天后才出现细胞融合病变。

hMPV主要经呼吸道传播，儿童普遍易感。血清学检查发现，6～12个月的婴儿中hMPV感染率为25%，5岁以下儿童的感染率为100%。hMPV感染后的临床表现与RSV感染很相似，多数临床症状不明显，但2岁以下婴幼儿感染的病情则较为严重，特别是当与其他呼吸道病毒合并感染时，症状会更重。hMPV感染的临床表现多样化，有的为轻微的上呼吸道感染症状；有的为流感样症状伴高热、肌痛和恶心呕吐；还有的发生严重的细支气管炎和肺炎；部分患者还会出现声音嘶哑、喘息、呼吸困难、眼结膜炎、中耳炎等。hMPV感染主要局限在呼吸道黏膜上皮细胞，感染两周后血清中可检测到特异性IgG，四周达到高峰，并伴有NK细胞和T细胞的减少。

对于hMPV感染的微生物学检查，不能采用呼吸道病毒感染的常规检查方法，因为该病毒在细胞培养中增殖缓慢，所以最好应用RT-PCR或实时定量PCR方法，才能做到既敏感又快速的诊断。目前尚无有效的抗hMPV药物和疫苗。

六、亨德拉病毒和尼派病毒

亨德拉病毒（Hendra virus）和尼派病毒（Nipah virus）是国际病毒命名委员会（ICTV）2002年才新增的亨德拉尼派病毒属的两个成员。亨德拉病毒和尼派病毒均为人畜共患病的病原体，其感染范围很广，包括人、猪、狗、猫、马和其他哺乳动物。与其他副黏病毒感染的明显区别是：这两种病毒都具有高致死性，特别是尼派病毒所致的疾病，死亡率高达40%。美国已把尼派病毒归类在与汉坦病毒相同的生物恐怖级别（C类），需在生物安全级别最高的四级（BSL-4）实验室进行操作。

亨德拉病毒是1994年首次从澳大利亚亨德拉镇（Hendra）暴发的一种严重的、致人和马死亡的呼吸道感染疾病中分离到的。病毒体大小不均，直径从38nm到600nm，表面有长度分别为15nm和18nm的双绒毛纤突。灰首狐蝠、中央狐蝠和眼镜狐蝠等是亨德拉病毒的自然宿主。虽然该病毒可感染马和人，但人的感染通常是因为接触了病马的组织和体液所致。亨德拉病毒感染的临床表现为严重的流感样症状，有明显的呼吸道症状，并伴有发热和肌肉疼痛，有的还出现神经症状，常表现为中度脑膜炎。亨德拉病毒感染的典型特征是严重的呼吸困难、高死亡率、接触传播和地区性（目

前仅澳大利亚有亨德拉病毒感染的报道）。

亨德拉病毒的分离培养可采用常规的细胞培养方法，而感染组织和培养细胞中的病毒抗原和核酸，可用免疫荧光和RT-PCR方法检测；血清学诊断中比较可靠的方法是ELISA和中和试验。目前尚无有效的预防疫苗和治疗药物。

尼派病毒是1999年首次从马来西亚尼派镇（Nipah）脑炎患者的脑脊液中分离到的。该病毒的形态具有多样性，大小为120～500nm不等。基因组RNA为18246个核苷酸，含六个结构基因，编码六种主要的结构蛋白，从3′端开始依次编码核蛋白（N）、磷蛋白（P）、基质蛋白（M）、融合蛋白（F）、糖蛋白（G）和大蛋白（L）。包膜蛋白为G和F，病毒通过G蛋白与病毒受体结合，在F蛋白的共同作用下，诱导膜融合使病毒穿入胞内。G蛋白无血凝素和神经氨酸酶活性。

尼派病毒的自然宿主是马来大狐蝠，猪通过食入狐蝠污染的果实受染，受染的猪通过体液或呼吸道气溶胶传播给人，主要导致尼派病毒脑炎。该病的临床症状包括高热、头痛、心动过速、脑炎、呼吸困难等，死亡率高。微生物学检查的标本常为新鲜的神经组织或脑脊液，标本可用细胞进行病毒分离培养，也可用RT-PCR检测病毒核酸。至今尚无有效的防治方法来对付尼派病毒感染。

第三节 冠状病毒

冠状病毒（coronavirus）属于冠状病毒科（Coronaviridae）的冠状病毒属（*Coronavirus*）。冠状病毒在自然界中广泛分布，能感染的宿主除人外还包括猪、猫、狗、牛、兔、鼠和禽类等，而且有高度的种属特异性。冠状病毒对多种组织器官有亲嗜性，主要为呼吸道和肠道，但也可累及肝、肾、心和脑等器官。根据2004年国际病毒分类委员会（ICTV）第八次分类报告，冠状病毒属包括四种人冠状病毒和多种动物冠状病毒。

人冠状病毒是引起普通感冒的主要病原体之一，普通感冒的10%～15%由人冠状病毒引起，所以在普通感冒病原体中它仅次于鼻病毒。另外，人冠状病毒还可引起腹泻或胃肠炎。2002年11月至2003年6月，严重急性呼吸综合征（severe acute respiratory syndrome，SARS）发生世界性流行，经鉴定其病原体是一种新型冠状病毒，也因此引起了全球更加关注冠状病毒。

一、冠状病毒

冠状病毒是因为病毒包膜上的刺突向四周伸出，形如日冕或冠状而得名。1965年，Tyrrell等用培养的人胚气管从普通感冒患儿标本中分离到人冠状病毒株B814；1966年，Hamre等用人胚肾细胞从上呼吸道感染患者标本中分离到人冠状病毒株229E；1967年，Mcintosh等用电镜从急性上呼吸道感染患者标本中观察到人冠状病毒株OC43；1968年，Almedia用电镜观察到这类病毒的四周有呈放射状的突起，形如日冕，故建议将其命名为冠状病毒（Coronavirus）。1975年，国际病毒分类委员会采纳了Almedia的建议，并正式建立了冠状病毒科。

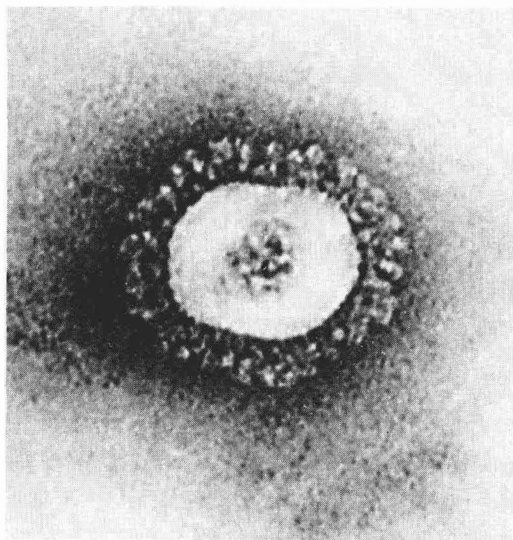


图23-6 人冠状病毒电镜照片（×297000）（Brooks et al，2004）

（一）生物学性状

冠状病毒呈多形态性（pleomorphic），病毒颗粒的直径为60～220nm，有包膜。病毒包膜表面的刺突呈放射状排列，电镜下形如日冕（图23-6）。人呼吸道冠状病毒的突起为花瓣状，排列成一圈；人肠道冠状病毒的突起为鼓槌状，长短相间，排列成双层。病

毒核酸为单正链RNA，全长27～33kb，不分节段，核衣壳呈螺旋对称。病毒结构蛋白包括核衣壳蛋白（N）、跨膜蛋白或基质蛋白（M）和刺突蛋白（S），某些病毒株（包括人冠状病毒OC43）还有具凝血和乙酰酯酶活性的糖蛋白（HE）。

根据冠状病毒多肽或蛋白质的抗原性，可以把冠状病毒分为两个哺乳动物群和两个鸟类群，有关哺乳动物冠状病毒的分群情况见表23-6。从人体分离到的冠状病毒，根据中和试验结果至少可分为三个血清型，并与鼠肝炎病毒有共同抗原。

表23-6 哺乳动物冠状病毒分群及其代表株

分群	病毒名称（缩写）	代表株
1群	人冠状病毒（HCV）	229E
	猪传染性胃肠炎病毒（TGEV）	
	犬冠状病毒（CCV）	
	猫传染性腹膜炎病毒（FIPV）	
	猪流行性腹泻病毒（PEDV）	
2群	人冠状病毒（HCV）	OC43
	大鼠冠状病毒（RCV）	
	大鼠涎泪腺冠状病毒（SDAV）	
	猪血凝性脑膜脊髓炎病毒（HEV）	
	牛冠状病毒（BCV）	
	鼠肝炎病毒（MHV）	
未分群	人肠道冠状病毒（HECV）	
	兔冠状病毒（RbCV）	
	水貂冠状病毒（MkCV）	
	猎豹冠状病毒（ChCV）	

冠状病毒可在人胚肾或肺原代细胞浆中增殖，以出芽的方式释放。病毒培养初期时CPE不明显，经传代后可增强病毒对细胞的致病变作用。也可用人胚气管及鼻甲黏膜进行培养。

冠状病毒对理化因素的耐受力较差，37℃数小时便失去感染性，对乙醚、氯仿等脂溶剂和紫外线敏感。

（二）致病性与免疫性

冠状病毒主要经飞沫传播，流行季节为冬春两季；各年龄组人群均易感，但以婴幼儿为主。疾病的潜伏期较短，平均为3天。所致的疾病主要是普通感冒和咽喉炎，某些冠状病毒株可引起成人腹泻或胃肠炎。冠状病毒感染多为自限性疾病，病程一般为6～7天。病后患者血清中虽有抗体存在，但免疫力不强，再感染仍可发生。

（三）微生物学检查与防治原则

冠状病毒感染的微生物学检查包括病毒的分离培养、血清学诊断和快速诊断。进行病毒分离培养时，宜采集鼻分泌物和咽漱液等标本，然后用人胚气管或鼻甲黏膜进行培养，也可用人胚肾或肺原代细胞培养。由于冠状病毒引起的CPE不明显，需对分离培养的病毒进行检测或鉴定，所以冠状病毒感染一般不进行病毒的分离和鉴定。进行血清学诊断时，宜采集感染早期和恢复期双份血清标本，用中和试验、血凝抑制试验和补体结合试验等方法检测血清中的特异性抗体，如果恢复期抗体滴度升高4倍及以上，就具有诊断意义。冠状病毒感染的快速检查包括用免疫荧光和酶免疫技术检查病毒抗原，用RT-PCR检测病毒核酸等。目前尚无可用的疫苗来预防冠状病毒感染，也无特效药物进行治疗。

二、SARS冠状病毒

2002年年底至2003年上半年，在世界范围流行的严重急性呼吸道综合征（SARS）是一种急性呼吸道传染病，又称为传染性非典型肺炎。此次流行开始于我国广东省佛山市，然后迅速蔓延至香港及世界各地，形成严峻的流行势态。全世界有32个国家和地区发生疫情，共有病例8465人，死亡919人，平均死亡率约11%。其病原体是一种新型冠状病毒，被称为SARS冠状病毒（SARS coronavirus，SARS CoV），与以前分离到的人冠状病毒有较大相距。

（一）生物学性状

SARS冠状病毒颗粒呈圆形或多形态性，直径120～160nm，有包膜，包膜上有排列如花冠状的刺突，长度约20nm。核酸为单正链RNA（+ssRNA），全长约29.7 kb，编码20多种蛋白，主要的结构蛋白是N、S和M等蛋白（图23-7）。核衣壳蛋白（nucleocapsid protein，N）的相对分子质量为50～60×10³，结合在病毒RNA上，对病毒的复制起重要作用。刺突蛋白（spike protein，S）的相对分子质量为180～220×10³，构成包膜表面的刺突，病毒通过它吸附到宿主细胞膜糖蛋白受体上，介导病毒与宿主细胞的结合。跨膜蛋白（membrane protein，M）的相对分子质量为20～35×10³，对稳定病毒结构、包膜的形成和病毒的出芽释放等起着重要作用。

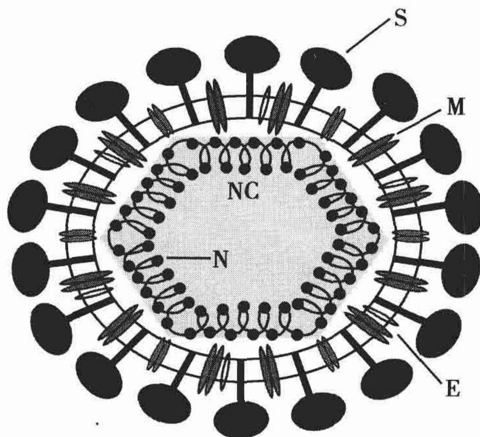


图23-7 SARS冠状病毒模式图
（引自北京大学生物信息中心）
N：衣壳蛋白；M：跨膜蛋白；
S：刺突糖蛋白；E：包膜蛋白

SARS冠状病毒的复制过程与一般的+ssRNA病毒复制基本相同，但该病毒的出芽不是经过细胞膜，而是从高尔基体进入胞质内空泡中，后者再与细胞膜融合而释放出病毒颗粒。SARS冠状病毒的一个复制周期约10～12小时。SARS冠状病毒能在Vero-E6细胞及FRhK-4细胞中增殖，可引起细胞溶解或形成合胞体等CPE。冠状病毒的抵抗力不强，对乙醚等脂溶剂敏感；不耐酸，故可采用0.2%～0.5%过氧乙酸消毒，常用的消毒剂在5分钟内也可杀死该病毒；对热的耐受力强于普通冠状病毒，56℃ 30分钟方可被灭活。

（二）致病性与免疫性

SARS的传染源主要是SARS患者，其源头是否为野生动物，尚待深入研究。传播途径以呼吸道为主，传播媒介是气溶胶和飞沫，但以近距离飞沫传播为主。其次，也可以通过接触患者呼吸道分泌物经口、鼻、眼传播，也不能排除经粪-口途径传播的可能性。流行季节为12月至次年5月。人体对SARS冠状病毒无天然免疫力，人群普遍易感。

人体被SARS病毒感染后，潜伏期一般为4～5天。首发症状为发热，体温一般都高于38℃，可伴有头痛乏力和关节痛等。继而出现干咳、胸闷、气短等症状；肺部X线片出现明显病理变化，可双侧或单侧出现阴影。严重者肺部病变进展很快，出现急性呼吸窘迫和进行性呼吸衰竭、DIC、休克等。SARS患者的平均死亡率约为11%，而患有糖尿病、冠心病、肺气肿等基础疾病的老年患者，死亡率可达40%～50%。

机体感染SARS冠状病毒后，可产生抗病毒的特异性抗体，也可出现细胞免疫应答，具有保护作用，但也可能导致免疫病理损伤。

（三）微生物学检查与防治原则

SARS冠状病毒感染的微生物学检查很重要，但病毒培养必须在BSL-3级实验室中进行。标本可以是患者的咽拭子、痰液和呼吸道分泌物，常用Vero-E6细胞分离培养病毒。当细胞出现病变后可用电镜观察病毒形态，或取培养上清检查病毒抗原或核酸。用RT-PCR或巢式PCR检测标本中

SARS CoV核酸，是最快速的SARS冠状病毒感染检测，还可用实时定量PCR检测病毒拷贝数。也可用免疫荧光、酶免疫法和胶体金免疫分析等方法，检测血清标本中检测抗SARS CoV的特异性抗体，若IgM阳性则表明近期感染。

预防措施主要是隔离SARS患者和疑似病例，并避免与患者、疑似患者和从事相关工作的医务工作者直接接触，从而有效地切断传播途径，使之免受SARS冠状病毒感染。针对SARS的灭活疫苗还处在研究中。对患者的治疗主要采用支持疗法，如早期吸氧、适量激素等，同时给予抗病毒类药物和抗生素，以防止病情发展及并发症的发生。

第四节　呼吸道感染的其他病毒

其他呼吸道感染病毒主要包括腺病毒（adenovirus）、风疹病毒（rubella virus）、鼻病毒（rhinovirus）和呼肠病毒（reovirus）等，它们分别属于不同病毒科，所以生物学性状差别很大。腺病毒是双链DNA病毒，人体的多种细胞都可作为腺病毒的容纳细胞，可在眼、呼吸道、胃肠道和尿道上皮细胞中增殖并引起感染。风疹病毒容易发生垂直传播，引起流产或死胎，以及胎儿畸形，所以风疹的早期诊断对优生优育具有重要意义。鼻病毒是普通感冒最常见的病原体，大约有50%的上呼吸道感染是由鼻病毒引起的。呼肠病毒感染多呈亚临床状态，包括轻度上呼吸道感染和胃肠道疾病等。

一、腺病毒

腺病毒（adenovirus）是Row等在1953年分离到的，归属于腺病毒科（Adenoviridae）。腺病毒科包含哺乳动物腺病毒属（*Mastadenovirus*）和禽腺病毒属（*Aviadenovirus*），已经发现100多个型别，其中能感染人的至少有51个型别。腺病毒可通过呼吸道、胃肠道和眼结膜等途径感染人体，主要引起急性发热性咽喉炎、咽结膜炎和急性呼吸道感染，以及眼部感染和小儿胃肠炎等。少数型别的腺病毒能在啮齿动物中引起细胞转化，是研究肿瘤的模型病毒。另外，由于多种细胞都可作为腺病毒的容纳细胞，所以在基因治疗中常选腺病毒作外源基因的载体。

（一）生物学性状

腺病毒呈球形，直径70～90nm，无包膜。核心为双链DNA，核衣壳为典型的20面体立体对称（图23-8、图23-9）。衣壳由252个壳粒组成，20面体上12个顶角的壳粒称五邻体（penton），五邻体上各有一条纤突（fiber），长度为9～33nm，其末端膨大呈小球状。纤突含有病毒吸附蛋白，还具有凝集动物红细胞的活性，其抗原性具有型特异性。其余240个壳粒为六邻体（hexon），除带有种（或称组、亚属）特异性抗原外，还与五邻体和纤突组成了病毒分型和病毒检测的主要抗原。

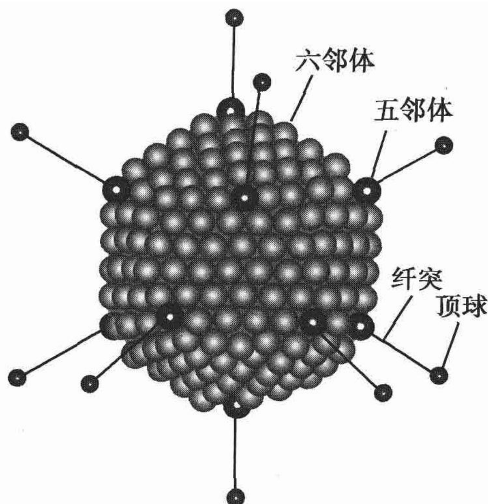
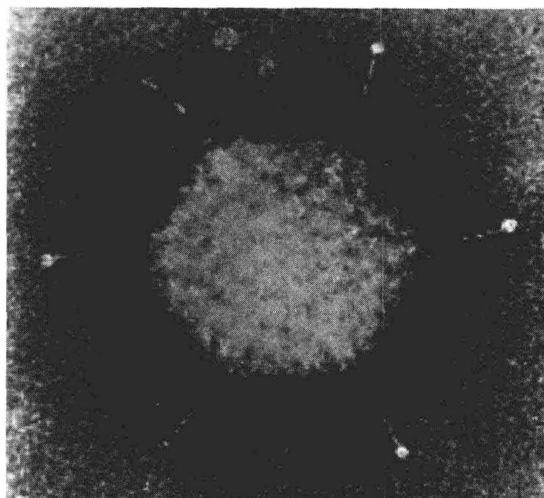


图23-8　腺病毒形态示意图


图23-9　腺病毒电镜形态图（×500000）（Brooks et al，2004）

腺病毒基因组为线状双链DNA，大小约33～45 kb，含有六个早期转录单位（E1A，E1B，E2A，E2B，E3和E4）、两个延迟转录单位（Ⅸ和Ⅰva2）和一个晚期转录单位（L1～L5）。早期转录翻译的蛋白与病毒复制有关，其中E1A和E1B蛋白还与受染细胞的转化有关。腺病毒有11种结构蛋白或多肽（PⅠ～PⅩ和TP），其中PⅤ、PⅦ、末端蛋白TP和酶蛋白PⅩ等四种多肽和蛋白与病毒基因组构成病毒核心，多肽PⅦ是主要的核心蛋白，它包裹着病毒DNA。其余七种蛋白或多肽则构成病毒衣壳六邻体，其中多肽PⅡ是最主要的成分。多肽PⅣ主要构成病毒三聚体纤突，与病毒血凝活性有关，常用血凝抑制试验对腺病毒进行分型。对人致病的51型腺病毒，根据它们核酸序列的同源性和凝血性等，被分为A～F六个组（表23-7）。

表23-7 人腺病毒的分类及主要特性

亚属（种、组）	红细胞凝集	型别	动物致癌性	DNA同源性 %	纤突长度 Nm
A	鼠红细胞凝集少或无凝集	12、18、31	高	48～69	28～31
B	猴红细胞完全凝集	3、7、11、14、16、21、34、35、50	低	89～94	9～11
C	鼠红细胞部分凝集	1、2、5、6	不致癌	99～100	23～31
D	鼠红细胞完全凝集	8～10、13、15、17、19、20、22～30、32、33、36～39、42～49、51	不致癌	94～99	12～13
E	鼠红细胞部分凝集	4	不致癌	16～19	17
F	鼠红细胞凝集少或无凝集	40、41	不致癌	9	28～33

多种人体来源的细胞都适合培养腺病毒，各型腺病毒均可在原代人胚肾细胞中增殖，在Hep-2、HeLa等传代细胞中也生长良好，可引起细胞肿胀、变圆、聚集成葡萄串状等典型的细胞病变，所以细胞培养常用于腺病毒的分离鉴定。

腺病毒对脂溶剂和胰酶不敏感，对理化因素的抵抗力比较强，对酸和温度耐受范围较大，室温中可存活10天。紫外线照射30分钟、56℃ 30分钟均可灭活腺病毒。

（二）致病性与免疫性

腺病毒可通过呼吸道、胃肠道和眼结膜等途径传播，易感者为婴幼儿、儿童和免疫力低下的人群，可引起多种疾病。大约有二分之一的腺病毒型别与人类疾病相关，但同一种型别腺病毒可引起不同的临床疾病，而不同型别的腺病毒也可引起相同的临床疾病（表23-8）。

表23-8 腺病毒血清型与相关疾病

相关疾病	流行病学特征	腺病毒血清型
急性发热性咽炎	婴幼儿和儿童易感	1、2、5、6、3、4、7
咽结膜热	学龄儿童易感，夏季流行与游泳池水污染有关	3、7、14
急性呼吸道感染	以婴幼儿和儿童多见	4、7、14、21
肺炎	婴幼儿和儿童易感，腺病毒肺炎约占10%	1、2、3、7
流行性角膜结膜炎	成人多见，传染性强	8、9、37
急性出血性膀胱炎	婴幼儿和儿童易感	11、21
胃肠炎	婴幼儿腹泻的主要病原体	40、41
肠套叠	婴幼儿多见	1、2、5
肝移植后儿童肝炎	与免疫功能低下有关	1、2、5
播散性感染	免疫抑制的艾滋病人和器官移植的受者多见	5、11、34、35、43～51

腺病毒感染的传染源为患者或无症状的病毒携带者。主要通过粪-口途径传播，也可经呼吸道和密切接触传播，手、污染的毛巾和眼科器械等将也可传播腺病毒，消毒不充分的游泳池水还能引起腺病毒感染的暴发流行。腺病毒首先侵入黏膜组织的上皮细胞，在细胞中增殖并造成组织损伤，但很少播散到淋巴结以外。在免疫缺陷的感染者，腺病毒可通过血液和淋巴液，把病毒播散到肺、肝、脾、肾以及中枢神经系统，引起多器官的多种疾病。

腺病毒所致的疾病分为以下四个大类：①呼吸道疾病：包括急性发热性咽炎、咽结膜热、急性呼吸道感染和肺炎等。其中咽结膜热常有暴发流行倾向，而腺病毒所致是肺炎占到病毒性肺炎的20%～30%，多数发生在6个月到2岁的婴幼儿，表现为急骤发热（39℃以上）、咳嗽、呼吸困难及发绀等主要症状，以及嗜睡、惊厥、结膜炎、腹泻和心力衰竭等症状；②胃肠道疾病：主要指小儿胃肠炎与腹泻，可占到小儿病毒性胃肠炎的5%～15%，已被WHO确定为儿童腹泻的第二位病原体。另外，腺病毒还可引起婴幼儿肠套叠。其实大多数腺病毒都能在肠上皮细胞中复制，但并不引起疾病，只有少数几个型别的腺病毒可致肠道疾病；③眼部疾病：主要包括流行性角膜结膜炎和滤泡性结膜炎，前者具有高度传染性，后者多为自限性疾病；④其他疾病：包括儿童急性出血性膀胱炎、女性宫颈炎和男性尿道炎；艾滋病患者病毒性腹泻的三分之一是由35型腺病毒引起的。

腺病毒感染后机体可产生特异性抗体，起保护作用的是中和抗体，对同型腺病毒有持久的免疫力。健康成人血清中一般都有抗多型腺病毒的抗体。

（三）微生物学检查与防治原则

腺病毒感染的微生物学检查常采用病毒分离和鉴定的方法，标本可取咽拭子、眼结膜分泌物、粪便和尿液等。标本经抗生素处理后接种敏感细胞（如HeLa细胞），37℃孵育后可观察到典型的细胞病变。也可用荧光或酶标记的抗体鉴定培养细胞中的腺病毒，以及用血凝抑制试验、补体结合试验和中和试验等对分离到的腺病毒进行型别鉴定。对于腺病毒性腹泻患者，可用电子显微镜（EM）或免疫电镜（IEM）检查粪便标本中的腺病毒颗粒，以及用PCR和DNA杂交等方法检测腺病毒核酸。对于腺病毒感染患者血清中的特异性抗体，常用ELISA和免疫荧光等方法进行检测，若采集的是急性期和恢复期双份血清标本，其恢复期血清抗体效价比急性期血清抗体效价增长4倍或以上，也有诊断价值。

针对腺病毒感染，目前尚无理想的疫苗和有效的药物，所以对腺病毒感染的防治都还有待深入研究。

二、风疹病毒

风疹病毒（rubella virus）是由Parkman等在1962年用猴肾细胞首先分离到的，在分类学上属于披膜病毒科（Togaviridae），但不通过节肢动物（arthropod）传播。风疹病毒是风疹（rubella），又名德国麻疹（Germen measles）的病原体，它除引起儿童和成人普通风疹外，还可引起胎儿的流产、死胎和先天性风疹综合征（congenital rubella syndrome，CRS），所以风疹病毒对胎儿的危害极大。

（一）生物学性状

风疹病毒的病毒体呈不规则球形，直径60～70nm，有包膜且包膜表面有5～6nm的微小刺突。核酸为单正链RNA，核衣壳为二十面体立体对称。基因组全长9.7 kb，含两个开放读框（ORF）。5′端的ORF编码四个非结构蛋白（NSP），3′端的ORF编码一条含1063个氨基酸的结构蛋白前体，经酶切加工后形成三种结构蛋白，即衣壳蛋白C（300个氨基酸）、包膜糖蛋白E1（481个氨基酸）和E2（282个氨基酸）。E1蛋白具有血凝素活性，可与鸡、绵羊和人的红细胞发生凝集，所以可通过血凝抑制试验（HI）测定抗风疹病毒的特异性抗体。风疹病毒可在来源于猴的细胞株（猴肾细胞Vero）和兔的细胞株（兔肾细胞RK-13）等多种细胞中复制，但只有在RK-13细胞中才出现明显的细胞病变效应（CPE），所以常用RK-13细胞分离和培养风疹病毒。风疹病毒只有一个血清型，与其他披膜病毒抗原无交叉。风疹病毒不耐热，56℃ 30分钟可被失活，对脂溶剂和紫外线敏感。

（二）致病性与免疫性

人是风疹病毒唯一的自然宿主，其中儿童是主要的易感者。风疹病毒经呼吸道传播，先在呼吸道局部淋巴结增殖，然后经病毒血症播散到全身。风疹的潜伏期为12～21天，然后出现发热、斑点状皮疹、伴耳后和枕骨下淋巴结的肿大等症状。成人感染风疹病毒后症状较重，除出现皮疹外，还有关节炎和关节疼痛、血小板减少、出疹后脑炎等，病后大多预后良好。风疹病毒感染最严重的危害是病毒通过垂直传播引起胎儿先天性感染，特别是孕期在20周内的孕妇发生的感染，对胎儿的危害最大。风疹病毒感染胎儿后，可以影响胎儿细胞的生长、有丝分裂和染色体结构，导致流产或死胎，以及先天性风疹综合征（CRS），即胎儿在出生后表现为先天性心脏病、先天性耳聋、白内障等畸形，以及黄疸性肝炎、肺炎、脑膜脑炎等疾患。CRS发生的概率与感染发生的孕期有密切关系，孕期越小，CRS发生的概率越高，如发生在孕期1～4周的感染，CRS发生率为58%；孕期13～16周的感染，CRS发生率为7%。

风疹病毒显性感染或隐性感染后，机体可产生特异性IgM和IgG，其中IgG能持续多年，使机体获得持久免疫力。抗-E1抗体具有中和病毒感染的作用，在抗风疹病毒的免疫保护中起着主要作用。95%以上的正常人血清中具有保护性抗体，孕妇血清中的保护性IgG抗体可以保护胎儿免受风疹病毒感染。

（三）微生物学检查与防治原则

风疹病毒感染的早期诊断很重要，特别是对孕妇风疹病毒感染，早期诊断的意义尤为重要，因为早期诊断可以减少畸形儿的出生。常用的检查方法有：①用ELISA或HI等血清学的方法，检测孕妇血清中抗风疹病毒的特异性IgM抗体，阳性则可认为是近期感染；也可通过双份血清中特异性抗体的检测，若抗体滴度呈4倍及以上升高也可辅助诊断。现在临床上产前检查中所做的“TORCH”试验（检查一组针对母婴感染病原体的抗体），其中的“R”便是指的抗风疹病毒抗体；②取胎儿羊水或绒毛膜，检测其中的风疹病毒抗原，或用RT-PCR或核酸杂交的方法，检测风疹病毒核酸，均可对风疹病毒感染做出早期诊断；③取胎儿羊水或绒毛膜进行风疹病毒分离培养和鉴定，也可准确诊断风疹病毒感染。但本方法比较繁琐，所以在风疹病毒感染的早期诊断中不常用。

风疹减毒活疫苗接种是预防风疹的有效措施，该疫苗于1969年就已开始使用，目前常与麻疹、腮腺炎组合成三联疫苗（measles-mumps-rubella vaccine，MMR）使用。一般于出生后12～15个月和4～6岁时分别接种一次，95%的接种者可获得高水平的保护性抗体，免疫力可维持7～10年以上或终生免疫。有关风疹的基因工程疫苗和合成多肽疫苗等，目前尚在研制中。风疹也是一种自限性病毒病，目前尚无特异的治疗方法。

三、鼻病毒

鼻病毒（rhinovirus）属于小RNA病毒科（Picornaviridae）。病毒呈球形，直径28～30nm，无包膜。核酸为单正链RNA，核衣壳为二十面立体对称。现已发现114个血清型，而通过中和试验（Nt）和补体结合试验（CF），新的血清型还将陆续被发现。鼻病毒能在人二倍体成纤维细胞中生长，最适温度为33℃（相当于人体鼻咽部的温度）。鼻病毒对酸敏感，pH3.0时迅速失活，据此特征能与肠道病毒（enterovirus）区别。

鼻病毒是成人普通感冒常见的病原体，鼻病毒引起的感染占上呼吸道感染的50%以上，还可引起婴幼儿和慢性呼吸道疾病患者的支气管炎和支气管肺炎。发病率较高的季节是冬春季，最主要的传播媒介是通过手接触传播，其次是飞沫传播。病毒经鼻腔、口腔和眼部的黏膜进入体内，主要在鼻黏膜上皮细胞中增殖。潜伏期2～4天，病后的主要症状有鼻塞、喷嚏、流涕、咳嗽、咽部疼痛和头痛等，体温一般不升高或略有升高。鼻病毒感染引起的疾病多为自限性疾病，通常在一周左右自愈。感染后可在呼吸道局部产生SIgA和血清中和抗体，对同型病毒有免疫力。由于鼻病毒型别多和抗原性漂移的存在，加之鼻病毒感染后免疫非常短暂，所以再感染极为常见。

目前尚无特异的办法对鼻病毒感染进行预防和治疗。在疫苗研究方面，遇到的困难是培养的鼻病毒滴度不高、病毒型别多和抗原漂移等，机体注射疫苗后产生的抗体主要是血清型抗体而不是分泌型抗体（SIgA），但预防本病最有意义的抗体是SIgA，所以鼻病毒疫苗研究受到严峻挑战。干扰素有助于鼻病毒感染性疾病的恢复。

四、呼肠病毒

呼肠病毒（reovirus）属于呼肠病毒科（Reoviridae）。病毒呈球形，直径60～80nm，无包膜。核酸为双链RNA，分10个片段，双层蛋白质衣壳为二十面立体对称，有三个血清型，其中共有的抗原是补体结合抗原。呼肠病毒含有血凝素，能凝集人O型红细胞和牛红细胞。呼肠病毒在自然界中广泛存在，宿主范围广，大多数人在儿童期已被感染，多呈隐性感染（或称亚临床）状态，刚过儿童期的成人血清中能查到抗呼肠病毒抗体。显性感染包括轻度上呼吸道疾病和胃肠道疾病，有报道称婴儿的胆道闭锁与3型呼肠病毒感染有关。从健康儿童和患发热、腹泻或胃肠炎的幼儿中均能分离到呼肠病毒，但更容易分离到呼肠病毒的标本是粪便而不是鼻腔或咽部标本，所以呼肠病毒与人体疾病之间的关系还需进一步研究。

展　望

呼吸道感染病毒在自然界中广泛存在，所致的人类呼吸道感染非常普遍，而且多数具有很强的传染性，严重危害人类健康，特别是对婴幼儿、儿童和老年人的危害极大，所以必须引起足够的重视。虽然近年来对呼吸道感染病毒的致病机制、特异性预防和治疗等方面的研究取得了长足的进步，但也还存在很多问题有待深入研究解决。下面就呼吸道病毒研究中比较受关注的三个方面进行简要介绍，以期能促进对这些问题的理解和重视。

呼吸道感染病毒最明显的一个特点就是病毒容易变异，其中正黏病毒是最典型的例子。由于正黏病毒的核酸分节段，加之宿主范围较广泛，因而导致流感病毒容易变异、以致出现新的流行株或新亚型流感病毒，人群对这些新病毒株或新亚型病毒普遍没有免疫力，往往就会造成流感的全球大流行。正黏病毒变异的问题已经引起人们的广泛关注，而这里需要强调的是应对呼吸道感染的其他病毒的变异问题引起重视，因为它们的变异同样会引起呼吸道感染疾病的流行，严重危害人类健康。如2003年出现的严重急性呼吸综合征（SARS），就是因为出现了一种新型冠状病毒，使疫情在短短的几个月内累及全球32个国家和地区，患者的平均死亡率高达11%，所以决不能掉以轻心。

在呼吸道感染病毒感染的特异性预防方面，还有大量问题要深入研究。目前使用的流感疫苗为三价灭活疫苗，接种途径为皮下注射，所以存在疫苗接种的不良反应较重、免疫保护维持时间短、各亚型流感病毒感染交叉保护力明显不足等缺点。应加大力度研究减毒活疫苗、HA亚单位疫苗和核酸疫苗，在接种途径上应尽量采用呼吸道喷雾，并用生物材料对各种流感疫苗进行包裹，努力提高接种疫苗的靶向性和缓释性。另外，在麻疹、腮腺炎和风疹三联疫苗（MMR）的研究中，也应该在剂型、接种途径等方面有所突破，努力提高MMR的预防效果和降低不良反应。

在呼吸道感染病毒感染的治疗方面，更需要关注的是病毒耐药性和发现抗病毒药物的新靶点。病毒同其他微生物一样，在抗病毒药物的压力选择下就会产生耐药性，如美国在2005年时分离到的流感病毒株（H_3N_2），对常用的抗流感药物——金刚烷胺和金刚乙胺的耐药率高达92%，所以2009年流感流行时推荐使用神经氨酸酶抑制剂——奥司他韦和扎那米韦。从病毒复制周期和抗病毒药物作用机制来分析，不管是抑制M2离子通道、还是抑制神经氨酸酶活性，都不是抗流感药物的最佳作用靶点，而抗流感药物的最佳作用靶点应该是HA，因为针对HA的药物可以阻止流感病毒与易感细胞的吸附。但是，目前尚没有作用于HA的药物，所以需要努力发掘和开发。

总之，随着人类社会的进步和科学技术的发展，呼吸道病毒感染所致的疾病一定能够得到有效

地控制，这是毋庸置疑的。但是，呼吸道感染病毒将永远存在并与人类相伴，所以我们一定要有充分的准备，积极防治呼吸道病毒感染的发生，更好地保障人类健康。

（李明远）

第二十四章　胃肠道感染病毒

胃肠道感染病毒（gastrointestinal infection virus）是一类通过胃肠道感染与传播的病毒，主要包括肠道病毒（enterovirus）、轮状病毒（rotavirus）、杯状病毒（calicivirus）、星状病毒（astrovirus）和肠道腺病毒（enteric adenovirus）等。其中，肠道病毒包括脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒、埃可病毒和新型肠道病毒等，主要引起脊髓灰质炎、心肌炎等多种肠道外感染性疾病；而肠道病毒之外的胃肠道感染病毒包括轮状病毒、杯状病毒、星状病毒和腺病毒40和41型等，主要引起病毒性胃肠炎（viral gastroenteritis）等肠道内感染性疾病，表现为腹泻、呕吐等临床表现，又称急性胃肠炎病毒（acute gastroenteritis virus）。

主要的胃肠道感染病毒及其所致人类疾病如表24-1。

表24-1　主要的胃肠道感染病毒及其所致人类疾病

病毒科	核酸类型	主要种类	引起的人类疾病
小RNA病毒科	线形、单正链RNA	脊髓灰质炎病毒	脊髓灰质炎
		柯萨奇病毒	神经、呼吸消化道、心脏感染
		埃可病毒	神经、呼吸消化道感染
		肠道病毒70型	急性出血性结膜炎，神经感染
		肠道病毒71型	神经系统感染，手足口病
轮状病毒科	分节段、线形、双链RNA	轮状病毒	婴幼儿腹泻、成人腹泻
杯状病毒科	线形、单正链RNA	诺瓦克病毒	腹泻
星状病毒科	线形、单正链RNA	星形病毒	腹泻
腺病毒科	线形、双链DNA	腺病毒40、41型	腹泻

Enteroviruses are smallest non-enveloped，positive-stranded RNA viruses shares an icosahedral capsid partical and biological properties and has a similar epidemiological pattern，belonging to the family *Picornaviridae*. There are polioviruses，Coxsackieviruses，echoviruses and new enteroviruses that can cause disease in humans. The new enteroviruses consists of 68，69，70 and 71 types，what isolated and identified firstly in 1969. Sixty-eight human enteroviruses types has been identified classically by serum neutralization.

In addition to the enteroviruses，Rhinovirus and hepatitis virus A（new enterovirus type 72 ）what cause human disease are also belongs to the *Picornaviridae*. Enterovirus are the most common cause of the parenteral infectious disease，such as poliomyelitis，myocarditis，acute hemorrhagic conjunctivitis，aseptic meningitis and hand，foot and mouth disease.

Unlike the enterovirus，acute gastroenteritis viruses are a group of viruses that cause viral gastroenteritis. Many different viruses can cause this condition，including rotaviruses，calicivirus，astroviruses，and enteric adenovirus. Those viruses induce in general the similar clinical gastrointestinal symptoms include the diarrhea，vomiting with different epidemic manner.

第一节 肠道病毒

肠道病毒属于小RNA病毒科（*Picornaviridae*），是一类形态最小、具有相同的形态结构和生物学特点的单股正链RNA病毒。主要包括脊髓灰质炎病毒（poliovirus）、柯萨奇病毒（coxsackievirus）、埃可病毒（echovirus）和新型肠道病毒（new enteroviruses）。其中，1969年以来分离并鉴定的肠道病毒为新型肠道病毒，包括68、69、70和71型等。根据肠道病毒中和试验的结果，目前把肠道病毒分为68个血清型。

另外，在小RNA病毒科中，除了肠道病毒以外，还包括引起人类疾病的鼻病毒及甲型肝炎病毒。肠道病毒主要引起多种肠道外感染性疾病，如脊髓灰质炎、心肌炎、急性出血性结膜炎、无菌性脑膜炎以及手足口病等。

一、脊髓灰质炎病毒

脊髓灰质炎病毒仅感染人类，引起脊髓灰质炎（poliomyelitis），包括1、2、3三个血清型，各血清型之间无交叉免疫反应。病毒在肠道黏膜细胞感染后入血引起病毒血症，进而侵犯脊髓前角运动神经细胞，引起急性弛缓性肢体麻痹（acute flaccid paralysis，AFP），多见于儿童，亦称小儿麻痹症（infantile paralysis）。通过接种脊髓灰质炎疫苗可以特异性预防脊髓灰质炎的发生。因此，脊髓灰质炎成为WHO选定的全球根除的第二个病毒感染性疾病。

（一）生物学性状

形态结构　脊髓灰质炎病毒具有典型的肠道病毒形态。病毒颗粒为直径28nm的球形颗粒，无包膜，呈20面体立体对称（图24-1）。病毒的核衣壳主要由4种多肽（VP1～VP4）构成，内含单股、正链、非分节段的RNA基因组。

基因组、蛋白与复制周期　脊髓灰质炎病毒基因组为单股、正链RNA，长约7.4kb，两端为保守的非编码区，与其他肠道病毒的同源性很高，中间为连续的开放读码框架；在病毒基因组的5′-UTR共价结合一个小分子蛋白质VPg（genome-linked protein），参与启动病毒RNA的合成；在病毒基因组的3′-UTR带有polyA尾，与病毒的感染性增强有关。脊髓灰质炎病毒RNA为感染性核酸，进入细胞后，可直接作为mRNA，翻译合成一个约2200个氨基酸的大分子多聚蛋白（polyprotein）前体；该多聚蛋白前体经病毒蛋白酶逐级酶切后，形成病毒结构蛋白VP1～VP4和功能性蛋白2A～2C、3A～3D（图24-2）。

病毒结构蛋白VP1、VP2和VP3均分布于病毒衣壳的表面，有中和抗原位点，VP1与病毒吸附有关；VP4位于病毒衣壳内部。当VP1与敏感细胞表面的病毒受体结合后，VP4暴露出来，病毒衣壳松动、脱壳，病毒基因组进入细胞。病毒在细胞浆中进行生物合成，装配成完整的病毒颗粒，并通过细胞裂解的方式释放。

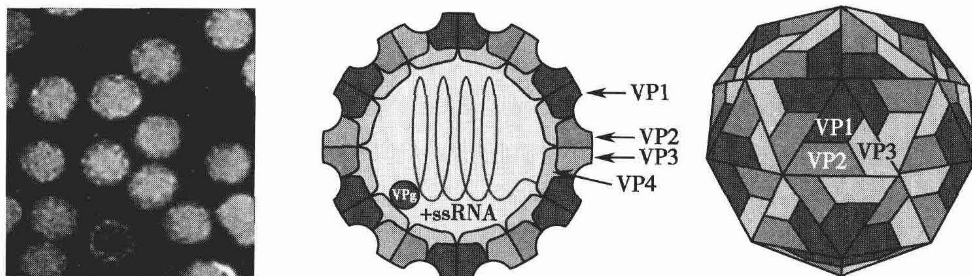


图24-1　肠道病毒形态与结构模式图
左为肠道病毒电镜图（×450000，程志提供）；右为脊髓灰质炎病毒结构示意图

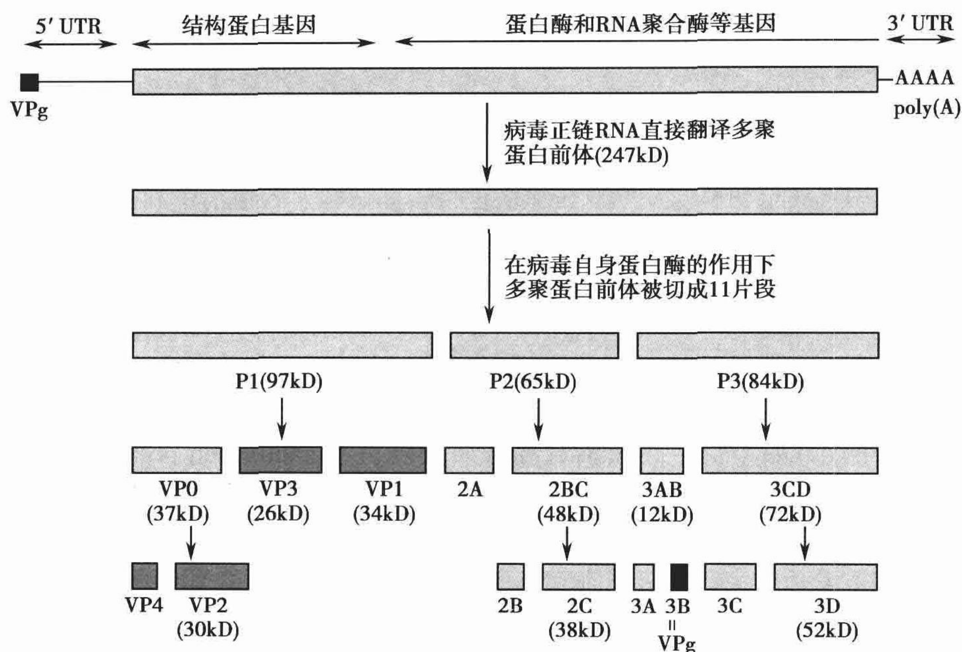


图24-2　脊髓灰质炎病毒的基因组结构与病毒蛋白的翻译和酶解过程

病毒基因组由5′-UTR、蛋白编码区(ORF)和3′-UTR组成，ORF直接翻译成多聚蛋白前体，然后被病毒蛋白酶逐级酶切成11个片段，包括结构蛋白VP1～VP4和功能蛋白2A～2C、3A～3D

抵抗力　病毒对理化因素的抵抗力较强，在污水和粪便中可存活数月；在胃肠道能耐受胃酸、蛋白酶和胆汁的作用；在pH3～9时稳定，对热、去污剂均有一定抗性，在室温下可存活数日，但50℃可迅速灭活病毒。1mol/L $MgCl_2$或其他二价阳离子，能显著提高病毒对热的抵抗力。

（二）致病性与免疫性

传染源、传播途径与致病机制　脊髓灰质炎病毒的传染源是患者或无症状携带者，主要通过粪-口途径传播。潜伏期一般为1～2周。脊髓灰质炎病毒的受体为免疫球蛋白超家族的细胞黏附分子CD155，在脊髓前角细胞、背根神经节细胞、运动神经元、骨骼肌细胞和淋巴细胞等部分组织中分布，限制了病毒的感染范围。病毒首先在口咽、消化道局部黏膜和扁桃体、咽壁淋巴组织以及肠道集合淋巴结中增殖，如有局部抗体产生，形成隐性感染；如病毒释放入血形成第一次病毒血症，并到达全身淋巴组织和呼吸道、消化道和皮肤黏膜以及心、肾、肝、胰、肾上腺等非神经组织中再次增殖后入血，引起第二次病毒血症，如有血清中和抗体产生，形成顿挫感染（abortive infection），仅出现发热、头痛、乏力、咽痛和呕吐等非特异性症状，并迅速痊愈；如果病毒毒力强或者中和抗体产生少，部分病毒可以突破血-脑脊液屏障侵犯中枢神经系统，引起麻痹等神经症状。其中，约90%以上的感染者表现为隐性感染，约5%的感染者发生顿挫感染，约1%～2%的感染者可以发生中枢神经系统感染，引起类脊髓灰质炎或无菌性脑膜炎（aseptic meningitis），出现颈背强直、肌痉挛等症状，只有0.1%左右的感染者发生暂时性或永久性弛缓性肢体麻痹等严重损伤，以四肢尤其是下肢麻痹多见，极少数患者可发生延髓麻痹，导致呼吸、心脏衰竭死亡。

目前，脊髓灰质炎病毒的野毒株感染病例在世界范围内显著减少，仅见于印度等部分国家；但疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎（vaccine associated paralytic poliomyelitis，VAPP）病例在世界各地仍有发生，主要见于免疫功能低下的人群。

免疫性　脊髓灰质炎病毒感染机体可以形成保护性抗体，包括在咽喉部、肠道黏膜表面形成SIgA抗体以及在血清形成中和抗体，可以阻止病毒自肠道感染和经血液传播以及侵入中枢神经系统。血清中和抗体在病毒感染后第2～6周达高峰，并形成对同型病毒的牢固和持久的免疫力。IgG

类抗体可以通过胎盘，对6个月以内婴儿具有保护作用。

（三）微生物学检查法

病毒分离与鉴定　粪便标本加抗生素处理后，接种原代猴肾或人胚肾细胞，置37℃培养7～10天，若出现细胞病变，用中和试验进一步鉴定病毒型别。

血清学试验　用发病早期和恢复期双份血清进行中和试验，若血清中和抗体滴度有4倍或4倍以上增高，则有诊断意义。

快速诊断　用核酸杂交、PCR等分子生物学方法可检测病毒基因组的存在而进行快速诊断。同时，根据病毒株核苷酸组成或序列的差异，以及酶切位点的不同，可区别和鉴定病毒疫苗株与野毒株。

（四）防治原则

自20世纪50年代开始广泛应用灭活脊髓灰质炎疫苗（inactivitied poliovaccine，IPV；Salk vaccine）和口服脊髓灰质炎减毒活疫苗（oral poliovaccine，OPV；Sabin vaccine）。特别是1988年WHO启动全球根除脊髓灰质炎行动计划以来，脊髓灰质炎发病率急剧下降，除非洲等地部分国家之外，绝大多数发达国家已消灭了脊髓灰质炎野毒株。但疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎病例尚需重视。

目前，IPV和OPV均为三型病毒混合疫苗（TIPV或TOPV），免疫后都可获得特异性保护性抗体，产生针对3个血清型脊髓灰质炎病毒的免疫力。尽管IPV具有接种剂量大、使用不便以及不能有效地诱导肠道免疫产生等缺点，随着目前的技术改进，增效IPV可以在接种后产生99%～100%的针对所有型别病毒的血清中和抗体，还可以诱导产生低水平的黏膜免疫。OPV可有效诱导血清中和抗体的产生，预防麻痹型脊髓灰质炎的产生，又可刺激肠道黏膜局部产生SIgA，阻止野毒株在肠道增殖以及在人群中传播与流行。由于OPV口服后可以在咽部黏膜感染和存留1～2周，并在数周内自消化道排出，因此病毒疫苗株的传播，可以在接触者中形成间接免疫。OPV口服免疫程序是1岁之内连续4次口服TOPV，每次间隔一个月，4岁时加强免疫1次，可形成和保持持久的免疫力。由于OPV热稳定性差，对病毒疫苗株的保存、运输、使用要求高，并有毒力回复的可能，特别是近年部分国家发生了疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎（Vaccine-associated paralytic poliomyelitis，VAPP），目前新的免疫程序建议首先使用IPV免疫两次后，再口服OPV进行全程免疫，以排除VAPP发生的危险。

二、柯萨奇病毒、埃可病毒

柯萨奇病毒（coxsackievirus）包括A、B两组，其中A组有23个血清型，即1～22和24血清型，B组有1～6血清型。埃可病毒即人肠道致细胞病变孤儿病毒（enteric cytopathogenic human orphan virus，ECHO），因分离该病毒时其致病性不清而得名，包括1～9、11～27和29～33型，其中第10型、第28型和第34型被重新分类为呼肠孤病毒1型（reovirus 1）、鼻病毒1型（rhinovirus 1）和柯萨奇病毒A组24型。新型肠道病毒为1969年以来分离并鉴定的肠道病毒，分别称为新型肠道病毒68、69、70和71型等。

（一）生物学性状

柯萨奇病毒、埃可病毒的形态、结构和基因组及其理化性状等与脊髓灰质炎病毒相似。但是不同类型肠道病毒在致细胞病变以及对乳鼠或猴的致病性等方面各具特点（表24-2）。柯萨奇病毒和埃可病毒与脊髓灰质炎病毒的区别在于对乳鼠和猴的致病性。柯萨奇A组病毒感染乳鼠可以引起广泛性骨骼肌炎，导致迟缓性麻痹（flaccid paralysis）；而柯萨奇B组病毒感染乳鼠可以引起局灶性肌炎，导致痉挛性麻痹（spastic paralysis），并常伴有心肌炎、脑炎和棕色脂肪坏死等。

（二）致病性与免疫性

柯萨奇病毒和埃可病毒型别多，分布广泛，感染人的机会多。患者与无症状携带者是传染源，

表24-2　肠道病毒致细胞病变及其对动物致病性的特点

	脊髓灰质炎病毒（3个血清型）	柯萨奇病毒A组*（23个血清型）	柯萨奇病毒B组（6个血清型）	埃可病毒（31个血清型）
致细胞病变	+	−	+	+
对乳鼠致病性	−	+	+	−
对猴致病性	+	−	−	−

* A组柯萨奇病毒A7、A9、A16、A24有致细胞病变作用，A7和A14对猴有致病性

主要通过粪-口途径传播，也可以通过呼吸道或眼部黏膜感染。由于病毒受体广泛分布于包括中枢神经系统、心、肺、胰、皮肤、黏膜等多种组织，因而柯萨奇病毒和埃可病毒可引起多种类型的疾病。

柯萨奇病毒和埃可病毒显著的致病特点是：①病毒主要在肠道中增殖感染，却很少引起肠道疾病；②不同型别的病毒可引起相同的临床综合征，如散发性类脊髓灰质炎麻痹症、暴发性的脑膜炎、脑炎、发热、皮疹和轻型上呼吸道感染；③同一型病毒亦可引起几种不同的临床疾病（表24-3）。其中疱疹性咽峡炎（herpangina）的典型症状是在软腭、悬雍垂周围出现水疱性溃疡损伤；手足口病（hand-foot-mouth disease，HFMD）主要表现为手足皮肤和口腔黏膜出现水疱疹；流行性胸痛（pleurodynia）症状为突发性发热和单侧胸痛；心肌炎（myocarditis）和心包炎（pericarditis）死亡率高，散发于成人和儿童。

免疫性　柯萨奇病毒和埃可病毒感染可以刺激机体产生特异性抗体，并形成针对同型病毒的免疫力。

表24-3　肠道病毒感染及其所致人类疾病

所致疾病	脊髓灰质炎病毒1～3型	柯萨奇病毒 A组1~22，24型	柯萨奇病毒 B组1～6型	埃可病毒1～9，11～27，29～33型	新型肠道病毒68~72型
神经系统疾病					
无菌性脑膜炎	所有型别	多数型别	全部型别	多数型别	71
麻痹	所有型别	4、7、9	2~5	2、4、6、9、11、30	70～71
无菌性脑炎		2、5～7、9	1~5	2、6、9、17、19	71
心脏与肌肉疾病					
病毒性心肌炎		4、16	1~5	1、6、9、19	
流行性胸痛		9	1~5	1、6、9	
呼吸与消化系统疾病					
普通感冒		21、24	1~5	4、9、11、20、25	
病毒性肺炎			4、5		68
病毒性肝炎		4、9	5	4、9	72
病毒性腹泻		18、20～22、24		18、20	
皮肤与粘膜疾病					
急性出血性结膜炎		24			70
手足口病		5、9、10、16			71
疱疹性咽峡炎		2～6、8、10			71
皮疹		多数型别	1、3、5	2、4、6、9、11、16、18	
全身感染与综合征					
发热		全部型别			
新生儿全身感染	所有型别		1~5	3、4、6、9、17、19	
糖尿病			3~5		

（三）微生物学检查与预防原则

由于柯萨奇病毒和埃可病毒型别多，临床表现多样，所以微生物学检查对确定病因尤为重要。通常采集咽拭、粪便和脑脊液等标本，通过接种猴肾细胞或乳鼠进行病毒分离；再用病毒特异性组合和单价血清做中和试验进行病毒型别鉴定，或者根据乳鼠病理学损伤和免疫学分析进行病毒型别鉴定。另外，用ELISA法检测病毒抗体或RT-PCR法检测病毒核酸等可以辅助诊断病毒感染。目前尚无有效的治疗药物和预防疫苗。

三、新型肠道病毒

新型肠道病毒是指1969年以来新分离并鉴定的肠道病毒，主要包括新型肠道病毒68、69、70和71型。这些病毒具有与其他肠道病毒相似的形态、结构、基因组与理化特性，并可以在猴肾细胞上增殖。但是，新型肠道病毒的抗原性与脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒和埃可病毒不同。主要经粪-口途径，引起多种神经系统疾病以及其他疾病。

肠道病毒68型从呼吸道感染的患儿分离获得，主要与儿童毛细支气管炎和肺炎的发生有关。肠道病毒69型在健康儿童的直肠标本分离获得，其致病性尚不清楚。

肠道病毒70型可以直接感染眼结膜，但不能感染肠道黏膜细胞，是人类急性出血性结膜炎（acute hemorrhagic conjunctivitis）最主要的病原体。病毒复制的最适温度是33～35℃，容易在疾病早期从结膜中分离获得。急性出血性结膜炎俗称“红眼病”，最早在非洲和东南亚等地发生流行，现在世界各地均有报道。该病以点状或片状的突发性结膜下出血为特征，主要通过接触传播，传染性强，成人患者多见。潜伏期为1～2天，临床病程约1周～2周。治疗以对症处理为主，外用干扰素滴眼液有良好效果。

肠道病毒71型是引起人类中枢神经系统感染的重要病原体，呈世界性流行，隐性感染多见，主要引起疱疹性咽峡炎、无菌性脑炎、脑膜炎以及类脊髓灰质炎等多种疾病，严重感染可引起死亡。该病毒对脊髓前角神经元有组织嗜性，是最常见的可以引起急性迟缓性麻痹的非脊髓灰质炎病毒。根据病毒衣壳蛋白VP_1核苷酸序列的差异，新型肠道病毒71型可分为A、B、C三个基因型，A型多流行于美国，B型和C型在世界范围内广泛传播。病毒感染后可以形成VP1特异性的中和抗体。另外，该病毒还可引起手足口病的流行与传播，是一种急性传染病，多见于儿童，突然发病，主要表现在患儿手、足、臀部皮肤出现皮疹，伴有口腔黏膜溃疡等。

第二节　急性胃肠炎病毒

肠道病毒以外的急性胃肠炎病毒（acute gastroenteritis viruses）主要包括轮状病毒、杯状病毒（human calicivirus）、星状病毒（astrovirus）和肠道腺病毒（enteric adenovirus）。它们主要引起病毒性胃肠炎（viral gastroenteritis）等肠道内感染性疾病，所致临床表现相似，主要引起腹泻、呕吐等消化道症状，但各自的流行方式不同。

一、轮状病毒

轮状病毒（rotavirus）属于呼肠病毒科（*Reoviridae*）轮状病毒属（Rotavirus），是引起婴幼儿腹泻最重要的病原体。1973年首次在急性腹泻患儿的十二指肠黏膜组织超薄切片中发现，因病毒颗粒呈“车轮状”，故名。1983年我国学者发现了成人腹泻轮状病毒（adult diarrhea rotavirus）。轮状病毒分为A、B、C、D、E、F与G共7组。A、B与C组轮状病毒可以感染人类，A组轮状病毒感染最为常见；而各组轮状病毒均可引起动物感染。

（一）生物学性状

病毒为60～80nm的球形颗粒，无包膜，具有20面体对称排列的内、外双层衣壳结构。电镜下

呈“车轮状”。病毒基因组由11个节段的双股RNA组成，总相对分子质量为$12 \times 10^6 \sim 15 \times 10^6$。病毒基因组RNA片段在聚丙烯酰胺凝胶电泳（polyacrylamide gel electrophoresis，PAGE）中的迁移率不同，形成的特征性的电泳图形可以反映不同分组轮状病毒的特点。

病毒基因组指导合成11种病毒蛋白质，包括6种结构蛋白（VP1～4、6、7）和6种非结构蛋白（NSP1～6）（图24-3）。其中，VP1、VP2和VP3为病毒核心蛋白，VP1为核糖核酸依赖的核糖核酸聚合酶（RNA replicase或RNA-dependent RNA polymerase，RdRp），VP2位于内衣壳，可刺激病毒核糖核酸的复制，VP3为鸟苷酸转移酶，指导病毒基因组的复制与转录；VP4是位于病毒表面的刺突，决定轮状病毒的血清型与感染性，并且VP4蛋白在一种内脏型蛋白酶作用下形成VP5和VP8之后，轮状病毒感染性增强；VP6为病毒内衣壳蛋白，是病毒分组的特异性抗原；VP7为病毒外衣壳蛋白，可促进病毒进入细胞；而且VP4和VP7作为中和抗原，可诱导中和抗体和辅助鉴定病毒血清型。病毒基因组中5、7、8、10和11片段，可分别编码NSP1、NSP2、NSP3、NSP4、NSP5和NSP6共6种非结构蛋白（non structural protein），参与病毒的复制过程与致病性。其中NSP1、NSP2是核糖核酸结合蛋白质（RNA-binding protein），NSP3参与阻断细胞蛋白质合成，NSP4是病毒性肠毒素（enterotoxin），可引起腹泻症状，NSP5和NSP6参与调控病毒的复制与装配。

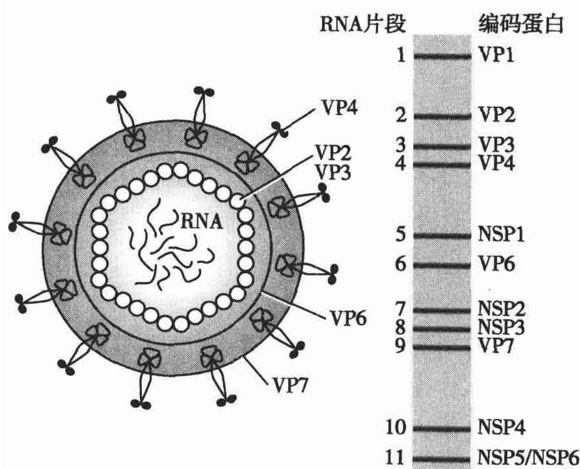


图24-3　轮状病毒形态与结构
左：轮状病毒结构示意图；右：病毒RNA片段与编码蛋白

根据轮状病毒VP6内衣壳蛋白的抗原性，可以把轮状病毒分为A～G组；进而，根据VP4和VP7外衣壳蛋白质的抗原性可以把不同组的轮状病毒分为多个血清型。

轮状病毒可以在非洲绿猴肾细胞MA-104株中增殖与培养，但需要用胰蛋白酶的预处理过程，使病毒VP4蛋白裂解成VP5和VP8蛋白后，才能保证病毒的感染性。轮状病毒借助细胞膜内吞形式进入细胞，被溶酶体酶处理脱去VP4刺突和VP7外衣壳蛋白后，暴露出VP2和VP6内衣壳蛋白，在保护病毒基因组的同时，参与诱导病毒复制过程；病毒在细胞质内通过转录mRNA指导病毒核糖核酸复制与蛋白质合成，并在病毒感染细胞核周边形成由大量病毒蛋白质组成的病毒包涵体，可能是病毒复制与装配的场所；最后病毒以裂解细胞的形式释放出来。由于轮状病毒基因组是分节段的双股RNA，所以在复制过程中可能出现基因重组。

（二）致病性与免疫性

轮状病毒A～C组可以引起人类和动物腹泻，而D～G组仅引起动物腹泻。其中A组轮状病毒感染呈世界性分布，主要引起婴幼儿（6个月～2岁）严重腹泻，是发展中国家婴幼儿死亡的重要原因之一；B组轮状病毒可以引起成人腹泻，在中国首先发现，以15～45岁青壮年为主，多为自限性感染，病死率低；C组轮状病毒感染的发病率低，多散发，偶见暴发流行。轮状病毒腹泻的发生具有一定的季节性，以秋冬寒冷季节多见，在我国常称为“秋季腹泻”，但在热带地区的季节性不明显。

患者和无症状携带者是传染源，主要通过粪-口途径传播。潜伏期为2天左右，表现为突然发病，随即出现呕吐和水样便，持续3～8天左右，并伴有发热、腹痛和脱水等症状。免疫力健全的患者通常为自限性感染，持续数天即可痊愈。但免疫缺陷的儿童则出现严重腹泻、脱水或转为慢性腹泻等。轮状病毒腹泻的发生机制是：①病毒在小肠黏膜绒毛细胞中增殖，破坏细胞的转运机制与绒毛结构，造成小肠吸收障碍；②病毒NSP4蛋白发挥病毒肠毒素的作用，直接激活细胞内信号通路诱

导小肠细胞过度分泌。致死病例的发生主要是由于严重脱水与电解质紊乱所致。

轮状病毒感染后可获持久免疫力。主要由病毒型特异性的血清抗体和肠道局部SIgA抗体等发挥保护性作用。但由于不同型别轮状病毒之间无交叉免疫，仍可出现无症状或轻微症状的再次感染。

（三）微生物学检查与防治原则

轮状病毒感染的微生物学检查主要包括粪便中病毒或病毒抗原的检测、病毒分离培养和血清学实验等。用电镜或免疫电镜直接检查标本中具有形态学特征的病毒颗粒是快速、准确的诊断方法，但受实验设备的限制。目前，采用ELISA法检测粪便标本中的病毒抗原，简便、快速、特异性高；采用分析标本中病毒RNA的PAGE电泳图谱，可以诊断轮状病毒感染和辅助确定病毒分组。另外，细胞培养也可以用于轮状病毒的分离，但由于敏感性低、费时以及某些病毒无明显细胞病变等原因，较少用于轮状病毒感染的临床诊断。

目前尚无特异性治疗手段，以对症治疗为主。通过及时补充水和电解质，纠正酸中毒，有助于减少死亡率。预防以控制传染源和切断传播途径为主。临床试用的疫苗主要是减毒活疫苗，可以刺激机体产生抗体，预防感染和减轻再感染的症状。但由于轮状病毒活疫苗的使用可能与接种后1～2周内儿童出现肠套叠（肠梗阻）等有关，疫苗的使用受到限制。最近，WHO推荐一种新的轮状病毒疫苗已经在美洲和非洲完成了临床试验，对2～3岁儿童有较好的预防作用，将用于在世界范围内控制轮状病毒腹泻。

二、杯状病毒

杯状病毒（Calicivirus）是一类有典型杯状形态的圆形、无包膜的RNA病毒。杯状病毒科（Caliciviridae）主要包括诺如病毒属（Norovirus，Norwalk-like virus）和札如病毒属（Sapovirus，Sapporo-like virus）等。常见的引起人类疾病的杯状病毒（human Calicivirus）主要是诺如病毒（Norovirus）和札如病毒（Sapovirus）。其中，诺如病毒的原型病毒株诺瓦克病毒（Norwalk viruses）是1969年用免疫电镜技术在美国Norwalk市流行的急性胃肠炎患者的粪便中发现的病原体，故名。

常见的人类杯状病毒为诺如病毒和札如病毒，主要引起成人和儿童的流行性、自限性急性胃肠炎，是除轮状病毒外造成腹泻的最主要的病毒病原。

生物学特点　杯状病毒无包膜、呈直径27～38nm的球形结构，电镜观察可见病毒颗粒表面存在32个特征性的杯状凹陷。病毒基因组是单股、正链、非分节段的RNA，具有3个开放读码框，5'端和3'端各有一个小的非编码区。ORF1编码病毒非结构蛋白的前体聚蛋白，其中包括RNA多聚酶；ORF2编码病毒的单个衣壳蛋白；最小的ORF3编码一个功能未知的蛋白。杯状病毒主要依据病毒形态、大小、蛋白质与核酸组成进行分类。诺如病毒与其他杯状病毒具有显著的基因同源性，但不具有杯状病毒的典型结构。札如病毒在电镜下可见杯状病毒的典型形态。由于该病毒不能在体外细胞中培养，且无合适的动物模型，且患者粪便标本中的病毒浓度较低，所以研究比较困难。

致病性与免疫性　诺如病毒和札如病毒感染呈世界性流行，与食物、水源等的污染造成的急性胃肠炎暴发密切相关，常见于学龄儿童和成人发病。其中，诺如病毒主要引起成人和学龄儿童以及幼儿的散发或暴发流行的非细菌性腹泻，札如病毒主要引起婴儿、幼儿和老人的急性胃肠炎。杯状病毒主要经粪-口途径传播，也可以经飞沫传播，进入体内后侵入小肠黏膜细胞内增殖，主要引起腹泻、呕吐、腹痛、头痛、恶心和低热等急性胃肠炎症状，并可随粪便排出体外。血清抗体和肠道黏膜SIgA抗体有一定的辅助诊断意义，但无保护性作用。

微生物学检查与防治原则　通过检查患者标本中的病毒颗粒、病毒特异性核酸或抗原以及特异性抗体，可以辅助诊断该病毒感染。目前以对症治疗为主，尚无有效的治疗药物与预防疫苗。

三、星状病毒

星状病毒科（Astroviridae）包括哺乳动物星状病毒属（Mamastrovirus）和禽星状病毒属（Avastrovirus），主要引起哺乳类及鸟类腹泻。

生物学特点 星状病毒（astrovirus）呈小圆结构病毒。电镜下可见直径28～30nm的球形病毒颗粒，呈特征性的星状结构，具有光滑和略微内凹的外壳和5、6个星状结构突起，无包膜。病毒基因组为单股、正链RNA，长约7.0 kb，两端为非编码区，中间有3个重叠的开放读码框架，编码6种衣壳蛋白。人类星状病毒（Human astrovirus）属于人类星状病毒哺乳动物星状病毒，现有7个血清型。

致病性与免疫性 星状病毒感染呈世界性分布，全年散发。主要借助水及饮食，通过人与人之间的密切接触进行传播。由于在健康成人、儿童及婴幼儿粪便均可查见此种病毒，推测当星状病毒在肠道内大量繁殖时引起胃肠炎。主要引起儿童和老年人腹泻，占人类腹泻疾病的3%～5%。潜伏期为24～36小时，病程1～4天。临床表现为非特异性、持续性的呕吐、腹泻、发热和腹痛。星状病毒感染的免疫性特点尚不清楚。由于目前星状病毒感染的流行主要以儿童和老年人为主，推测成年人对病毒感染有抵抗力。

微生物学检查与防治原则 用电镜和酶免疫实验直接检查粪便标本中病毒，可以辅助诊断星状病毒引起的急性胃肠炎。尚无有效的治疗药物与预防疫苗。

四、肠道腺病毒

肠道腺病毒（enteric adenovirus）是指主要引起急性胃肠炎的腺病毒40、41型，以区别于主要引起呼吸道感染性疾病的大多数腺病毒（adenovirus）。

生物学特点 肠道腺病毒具有腺病毒的典型形态与结构。是有双链DNA基因组、中等大小（90～100nm）、呈二十面体立体对称的无包膜病毒。对化学、物理学因素有抵抗力，在体外可以长期存活。

致病性与免疫性 肠道腺病毒主要经粪-口途径传播，引起散发或流行性急性胃肠炎，以儿童感染多见，表现为腹泻、呕吐等临床表现。

微生物学检查与防治原则 通过检查病毒抗原、核酸以及病毒分离和血清学检查可以辅助诊断肠道腺病毒感染。目前尚无有效的预防疫苗和治疗药物，主要采取对症治疗。

展　望

自从1988年WHO提出并通过了在2000年全球根除脊髓灰质炎行动计划（Global Poliomyelitis Eradication Initiation）以来，脊髓灰质炎减毒疫苗（Oral polio vaccine，OPV）和灭活疫苗（inactivated polio vaccine，IPV）的普及接种，使脊髓灰质炎这种古老传染病的发生明显下降。

根据WHO确定的脊髓灰质炎根除区域的必要条件与标准，1994年在美洲国家率先消灭了脊髓灰质炎，2000年包括中国在内的西太平洋地区也达到了这个目标，2002年欧洲地区也被证实为无脊髓灰质炎地区。然而，到2000年全世界仍有近3000人发生脊髓灰质炎，WHO确定的最初目标未能实现。2003年，WHO改变了消灭脊髓灰质炎的策略，对印度、尼日利亚、巴基斯坦、埃及、阿富汗、尼日尔和索马里等7个仍有脊髓灰质炎流行的国家进行重点的免疫接种；并继续关注例如刚果民主共和国等脊髓灰质炎“高风险”的地区。WHO全球脊髓灰质炎根除计划（2004～2008）预计在2008年实现全球根除脊髓灰质炎的目标。但是，至2009年，全球仍然有脊髓灰质炎病例1087例发生，主要集中在巴基斯坦、阿富汗、印度、尼日利亚等地。

由于在20多年以前天花被消灭的最后阶段也面临着类似的困难情况，通过让所有人都得到

疫苗的保护，才达到了最终根除的效果。因此，目前的根除脊髓灰质炎的免疫计划是在联合应用OPV和IPV的基础上，对流行地区以及“高风险”地区的每一个儿童进行覆盖接种，控制脊髓灰质炎野生株感染病例的发生，预防疫苗相关麻痹型脊髓灰质炎病例的出现，预期在一定的时间内可以实现根除脊髓灰质炎的目标。尽管目前实现全球根除脊髓灰质炎计划的目标仍然需要大量的资金投入，但是科学家已经得到确切结论，根除脊髓灰质炎的举措可能看上去比控制脊髓灰质炎更昂贵，但是前者最终会降低脊髓灰质炎造成的费用和发病人数。

（张凤民）

第二十五章 肝炎病毒

肝炎病毒（hepatitis virus）是指以侵害肝脏为主并引起病毒性肝炎的一组不同种属的病毒。目前公认的人类肝炎病毒有5种，即甲型肝炎病毒（hepatitis A virus，HAV）、乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）、丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV）、丁型肝炎病毒（hepatitis D virus，HDV）和戊型肝炎病毒（hepatitis E virus，HEV），在分类学上各归属于不同的病毒科和属，它们的理化特性、基因结构、传播途径及致病特点也各不相同（表25-1）。

表25-1　5种人类肝炎病毒的差异比较

	HAV	HBV	HCV	HDV	HEV
病毒科	小RNA病毒科	嗜肝DNA病毒科	黄病毒科	未确定	肝炎病毒科
病毒属	嗜肝病毒属	正嗜肝DNA病毒属	丙型肝炎病毒属	丁型肝炎病毒属	戊型肝炎病毒属
病毒颗粒	27nm，二十面体立体对称球形	42nm，球形	60nm，球形	35nm，球形	30～32nm，二十面体立体对称球形
包膜	无	有，HBsAg	有	有，HBsAg	无
基因组及大小	ssRNA，7.5kb	dsDNA，3.2kb	ssRNA，9.4kb	ssRNA，1.7kb	ssRNA，7.6kb
抵抗力	耐热，耐酸	对酸敏感	对酸、乙醚敏感	对酸敏感	耐热
传播方式	粪口传播	血源传播、垂直传播	血源传播、垂直传播	血源传播、垂直传播	粪口传播
流行特点	人群感染率高	人群感染率高	中度流行	感染率低，区域性分布	区域性流行
暴发性肝炎	罕见	罕见	罕见	常见	常见于孕妇
转为慢性化	否	多	多	多	否
致癌性	否	是	是	不明确	否

除公认的甲、乙、丙、丁和戊型肝炎外，目前仍然有10%～20%左右的各类病毒性肝炎病因不明，统称为非甲～戊型肝炎（Non A to E hepatitis）。近年，在研究这类未知肝炎病因时，在非甲～戊型肝炎患者血清中发现了一些新病毒，如GB病毒-C/庚型肝炎病毒（GBV-C/HGV）、TT病毒、SEN病毒、TLMV（TTV-like mini virus）等，但由于致病性尚不明确，因此是否为新型人类肝炎病毒尚需进一步证实。此外，还有一些其他种类的病毒，如黄热病毒、巨细胞病毒、EB病毒、风疹病毒等，虽也可引起肝脏功能损坏，但不列入肝炎病毒范畴。

Viral hepatitis has emerged as a major public health problem throughout the world affecting several hundreds of millions of people. At present, five known hepatitis viruses, belonging to respective viral families, directly affecting the liver and causing the different types of viral hepatitis, have been discovered. There are hepatitis A, B, C, D, E viruses, responsible for hepatitis A (formerly called infectious hepatitis), hepatitis B (formerly called serum hepatitis), hepatitis C (formerly called

post-transfusion hepatitis non A non B, PT- NANBH), hepatitis D (formerly called delta hepatitis), Hepatitis E (formerly called enterically-transmitted non-A, non-B hepatitis, ET-NANBH), respectively.

Hepatitis A virus Hepatitis A virus (HAV) is a small, unenveloped RNA virus belonging to the Picornaviridae family, genus *Hepatovirus*, that causes infectious or epidemic hepatitis transmitted by the fecal-oral route. Virion is round with 27 nm in diameter. Incomplete virus particles, the empty capsids, often present. The genome length is about 7500 nucleotides. Only one serotype has been identified. Various serologic tests are available for hepatitis A diagnosis. Isolation of virus in tissue culture requires prolonged adaptation and it is, therefore, not suitable for diagnosis. Inactivated and attenuated live hepatitis A vaccines have been developed and may be useful potentially as vaccines. Passive protection may be obtained by the administration of pooled normal human immunoglobulin.

Hepatitis B virus Hepatitis B virus (HBV), a member of the Hepadnaviridae family, is a 42 nm spherical particle, comprising the nucleocapsid with 27nm in diameter surrounded by an outer envelope of the surface protein (HBsAg) embedded in membranous lipid derived from the host cell. The nucleocapsid of the virion consists of the viral genome surrounded by the core antigen (HBcAg).

The HBV genome has partially double stranded and single stranded DNA. It is composed of two linear strands of DNA held in a circular configuration by base-pairing at the 5′ ends. The long strand with negative polarity is approximately 3.2kb, and short strand with positive polarity is incomplete with 1.7 ~ 2.8kb. The genome reveals four open reading frames (ORF). The first ORF encodes the various forms of the surface protein. The core ORF has two in-phase initiation codons, responsible for the codings of HBeAg and HBcAg, respectively. The third ORF, which is the largest and overlaps the other three, encodes the viral polymerase. The fourth ORF is designated "x" and now has been demonstrated to be a transcriptional transactivator. Four principal serologic subtypes of HBV are recognized: *adw*, *adr*, *ayw*, and *ayr*.

HBV replicates within infected hepatocytes, it is the most important agent responsible for parenterally transmitted viral hepatitis. The pathology is mediated by the responses of the cellular immune response of the host to the infected hepatocytes. Long term continuing virus replication may lead to progression to cirrhosis and hepatocellular carcinoma. Markers of virus replication in serum include HBV DNA, HBsAg, and HBeAg. The immune response to infection with HBV is directed toward at least three antigens: HBsAg, HBcAg, and HBeAg. The current diagnosis of HBV infection mainly depends on serological tests for identification of anti-HBs, anti-HBc, and anti-HBe IgG and IgM. A safe and effective genetically engineered vaccine for hepatitis B is available. If an unvaccinated individual is exposed to the virus accidentally, hepatitis B immune globulin can be given.

Hepatitis C virus Hepatitis C virus (HCV) is a small, enveloped RNA virus belonging to the Flaviviridae family, genus *Hepacivirus*, that causes acute and chronic liver disease in humans, especially including chronic hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. Transmission studies in chimpanzees established that HCV, the main agent of parenterally acquired non-A, non-B hepatitis, is likely to be an enveloped virus and some 30 to 60 nm in diameter. The HCV genome is a single-stranded RNA molecule of positive polarity. It contains a single ORF encoding a polyprotein of about 3000 amino acids. The ORF is ranked by 5′ and 3′ untranslated regions (UTR). There is considerable sequence heterogeneity among almost all HCV isolates. Six genotypes and various subtypes with differing geographical distribution have been identified. The HCV quasispecies was observed during the evolution of disease in individual patients and may play an important role in progression to chronicity, forming

immune escape mutants and hepatitis C vaccine problem. There is no vaccine to prevent hepatitis C at the present time.

Hepatitis D virus The hepatitis D virus（HDV）is a defective RNA virus that can only infect an individual in the presence of hepatitis B. It occurs either as a co-infection with acute hepatitis B or as a superinfection in people with chronic hepatitis B. The HDV particle is approximately 36 nm in diameter and composed of a RNA genome associated with hepatitis D antigen（HDAg），surrounded by an envelope of HBsAg. The HDV genome is a closed circular RNA molecule of 1 679 nucleotides and resembles those of the satellite viroids and virusoids of plants. HDV codes for HDAg. HDV itself seems to be cytopathic and HDAg may be directly cytotoxic. HDV is now known to require a helper function of HBV for its release from the host hepatocyte and for entry in the next round of infection. Vaccination against HBV also prevents HDV infection.

Hepatitis E virus Hepatitis E virus（HEV），the cause of enterically-transmitted non-A，non-B hepatitis，is a unenveloped positive sense single stranded RNA virus，currently classified in a new family Hepeviridae genus *Hepevirus*. The genome（7.2 ~ 7.6 kb）contains three ORFs encoding for non structural（ORF1）and structural proteins（ORF2，ORF3）. HEV infection has been associated epidemic and sporadic acute hepatitis transmitted by faecal-oral route. A single serotype of virus is involved. Phylogenetic analysis of different geographical HEV identified eight main genotypes. Isolation of HEV in domestic animals supports an environmental reservoir of HEV. HEV produces similar symptoms and has a similar prognosis as hepatitis A. The current diagnosis of HEV infection includes molecular tools for the detection of the virus in stool or serum samples and serological tests for identification of anti-HEV IgG and IgM. This virus is responsible for high mortality（15% ~ 20%），during pregnancy particularly during the third trimester. There is currently no vaccine available against hepatitis E.

第一节 甲型肝炎病毒

人类甲型肝炎病毒（hepatitis A virus，HAV）主要经过粪-口途径传播，引起的甲型肝炎过去曾称为传染性肝炎（infectious hepatitis）。HAV有隐性感染和显性感染两种，后者引起急性甲型肝炎，可造成暴发或散发流行，潜伏期短，发病较急，预后良好，一般为自限性疾病，不发展成慢性肝炎和慢性携带者。

1983年国际病毒分类命名委员会（International Committee on Taxonomy of Viruses，ICTV）将HAV归类为小RNA病毒科肠道病毒属72型。后发现HAV的生物学性状与小RNA病毒科肠道病毒属病毒存在明显的差别，如①两者RNA基因组的核苷酸序列和GC含量有较大的差异；②HAV缺少或仅含少量VP4；③HAV在细胞内增殖迟缓，产量低，不易引起细胞病变；④HAV耐热耐酸；⑤HAV有明显的嗜肝性等。1993年HAV被ICTV单列为小RNA病毒科（Picornaviridae）嗜肝病毒属（*Hepatovirus*）。

一、生物学性状

形态与结构 HAV颗粒的直径约27nm，呈球形，衣壳为二十面体立体对称，无包膜和突起。电镜观察急性甲型肝炎患者血清或粪便中分离得到的HAV有实心颗粒和空心颗粒两种（图25-1）：前者为完整成熟的病毒体，有感染性；后者为缺乏病毒核酸的空心衣壳，无感染性但有抗原性。一般以前者为主。

基因结构 HAV基因组为单股线状正链RNA（+ssRNA），长约7500个核苷酸。基因组由5′末端非编码区（5′-noncoding region，5′NCR）、编码区（coding region）、3′末端非编码区NCR

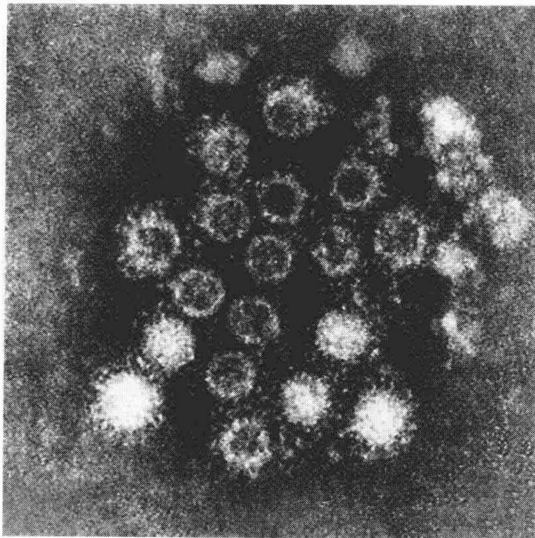


图25-1 HAV电镜图（×400000）
图中可见完整成熟的病毒体（饱满颗粒）和不成熟病毒颗粒（空心衣壳）同时存在，图片引自http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books

（3′-noncoding region，3′ NCR）及poly（A）尾构成（图25-2）。5′ NCR全长734bp，约占整个基因组的10%，是基因组中最保守的序列，该区域对决定病毒感染的宿主细胞种类有着至关重要的作用，此外，该区域内含有内部核糖体进入位点（internal ribosome entry site，IRES），可与细胞40S核糖体结合，在HAV蛋白的翻译过程中具有重要作用。编码区只有一个开放读码框（opening reading frame，ORF），分为P1、P2、P3三个功能区，编码约为2200个氨基酸的HAV前体蛋白。P1区编码VP1、VP2、VP3及VP4四种多肽，其中VP1、VP2和VP3为病毒衣壳蛋白的主要成分，具有抗原性，可诱生中和抗体。而衣壳蛋白中VP4多肽缺失或很少，一般检测不到。P2区编码2A、2B及2C蛋白，其中2A与VP1以VP1-2A形式产生，在病毒形态发生的后期，VP1-2A被加工为成熟的VP1衣壳蛋白；2B及2C的功能目前不完全清楚。P3区编码3A、3B、3C及3D，其中3B蛋白为病毒基因组连接蛋白（viral genome-linked protein，VPg），该蛋白又称引物蛋白（primer protein），与病毒基因组的5′ NCR的5′端结合，不仅启动病毒RNA复制，还可稳定病毒核酸构型、保护病毒核酸免遭细胞内的核酸酶的破坏；3C蛋白（$3C^{pro}$）是蛋白酶，将HAV编码的单一的前体蛋白加工成各个结构和非结构蛋白；3D蛋白（$3D^{pol}$）是依赖RNA的RNA聚合酶，决定病毒的复制。HAV的3′ NCR不同株间变化较大，可达20%，其功能可能与病毒的RNA合成调控有关。HAV基因组的最末端为polyA尾，可能与HAV RNA的稳定性有关。

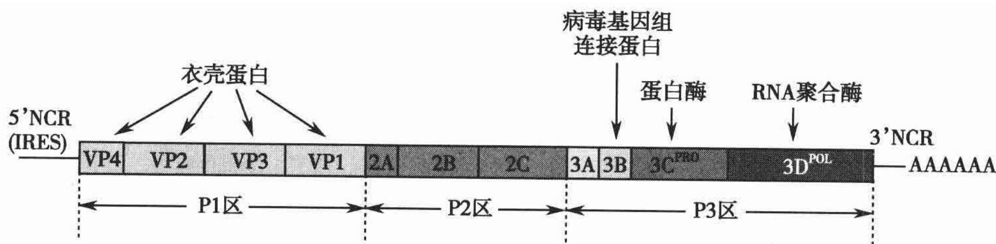


图25-2 HAV基因结构
HAV基因组从5′端至3′端依次为5′端非编码区（5′ NCR）、编码区、3′端非编码区（3′ NCR）及polA尾，其中5′ NCR与3B（Vpg）结合；编码区分为P1、P2、P3区，编码各结构及非结构蛋白

血清型与基因型　HAV只有一个血清型，从世界各地分离的HAV毒株抗原性稳定，主要抗原决定簇位于VP1中，VP2和VP3上也存在中和位点。根据HAV VP1区的序列差异，将来自世界不同地区的HAV毒株分为7个基因型（Ⅰ～Ⅶ型），感染人HAV（hHAV）有四个型（Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ型），其中，Ⅰ型和Ⅲ型还可以各分为2个亚型，即ⅠA和ⅠB，ⅢA和ⅢB。我国属于HAV高流行区，主要分布为ⅠA亚型。

动物模型与细胞培养　易感动物和细胞培养HAV的主要自然宿主是人类，黑猩猩、狨猴、猕猴、恒河猴等灵长类动物。我国学者毛江森等最早建立了短尾猴HAV感染动物模型。1979年Provost首次在体外用FRhk6细胞成功分离培养HAV后，目前多种原代及传代细胞株均可用于HAV的分离培养，如非洲绿猴肾细胞（Vero）、传代恒河猴肾细胞（FRhk4，FRhk6）、人胚肾细胞以及人肝癌细胞系（PLC/PRF/S）等。但HAV在体外细胞中增殖缓慢且一般不引起细胞病变，故不能直接识别细

胞是否被感染。HAV临床标本分离培养较困难。

抵抗力 HAV耐酸碱（在pH2～10之间稳定）、耐热，耐有机溶剂。HAV对热不敏感，60℃ 1小时均不能使HAV失活，98～100℃，5分钟方可完全灭活HAV。Mg^{2+}或Ca^{2+}可增强HAV对热的抵抗力。HAV在水源、海水、土壤以及毛蚶类水产品中可存活数天至数月。HAV经高压蒸汽灭菌（121.3℃ 20分钟）、煮沸（5分钟）、干热（180℃ 60分钟）、UV（1.1瓦/1分钟）、甲醛（1∶4000、37℃ 3天）、氯（10～15ppm 30分钟）以及1∶100倍稀释漂白粉等处理均可使之灭活。

二、致病性与免疫性

传染源与传播途径 甲型肝炎的传染源为患者和隐性感染者。黑猩猩等易感动物在自然条件下虽然也可感染HAV，但作为传染源的意义不大。患者潜伏期后期以及急性期的粪便有传染性，主要通过粪-口途径传播。HAV通常由患者粪便排出体外，经污染食物、水源、海产品（如毛蚶）及食具等传播而引起暴发或散发性流行。1988年春季上海曾发生因生食被HAV污染的毛蚶而暴发甲型肝炎流行，发病多达30余万例，死亡47例。HAV病毒血症时间短暂，故经输血或注射传播的可能性极小。

甲型肝炎的潜伏期平均30天（15～45天），在潜伏期末粪便就大量排出病毒，传染性强。发病急，多出现发热、肝肿大、疼痛等症状。黄疸较多见并伴有血清转氨酶（ALT、AST等）升高。发病后2周血清和肠道中出现抗HAV抗体，随后患者粪便中的HAV逐渐消失。甲型肝炎一般为自限性疾病，一般不转变为慢性肝炎和慢性携带者。

致病机制 HAV主要侵犯儿童和青少年，大多数不出现明显的症状和体征，但粪便中可排出病毒。显性与隐性感染均可使机体产生抗HAV抗体（IgM和IgG）。我国成人血清中抗HAV抗体阳性率可达70%～90%。HAV经口侵入人体后首先在口咽部或唾液腺中增殖。HAV进入消化道以及侵入肝细胞的机制尚不清楚。但已明确HAV是在肝细胞中增殖而导致疾病。HAV在细胞内增殖非常缓慢，并不直接造成明显肝细胞损害。当肝细胞内HAV复制高峰期过后，患者才出现明显的肝损伤。而黄疸出现时，血液和粪便中HAV量却明显减少，同时体内出现抗体，提示HAV引起的肝脏损伤与机体的免疫应答过程有关。研究表明巨噬细胞、NK细胞以及HLA参与介导的CTL及其相关因子，如γ干扰素等在免疫损伤机制中起十分重要的作用。至今未发现HAV对细胞有转化作用，因此甲型肝炎预后良好。

免疫性 HAV感染早期血清中出现抗HAV IgM，感染4～6周达高峰，3个月后降至检测水平以下。恢复期出现抗HAV IgG，并可持续多年；在IgM出现的同时，从粪便中可检出抗HAV SIgA。在恢复期还可出现病毒的特异性细胞免疫应答。显性和隐性感染后对HAV均可产生持久的免疫力。

三、微生物学检查法

血清学检查 HAV的实验室诊断以血清学检查为主，检测患者血清抗HAV IgM可作为HAV早期感染的指标，这是目前最常用的特异性诊断方法。常用放射免疫（RIA）和酶联免疫（ELISA）法进行检测。检测抗HAV IgG有助于流行病学调查。检查粪便中抗HAV SIgA也有助于本病的诊断。

病毒及其抗原检测在潜伏期末期和急性期早期，可以采取咽拭子或粪便上清液接种敏感细胞进行病毒分离培养和鉴定，也可采用免疫电镜检测粪便中的HAV颗粒进行诊断；用RIA或ELISA法可检测培养细胞或粪便中HAV抗原（HAAg）。病毒及其抗原检测一般不作为常规诊断用。

甲型肝炎时HAV和抗HAV的消长情况见图25-3。

病毒核酸检测 应用cDNA-RNA核酸杂交技术及RT-PCR技术检测标本中HAV RNA。PCR引物多依据5′ NCR中的保守序列设计合成。

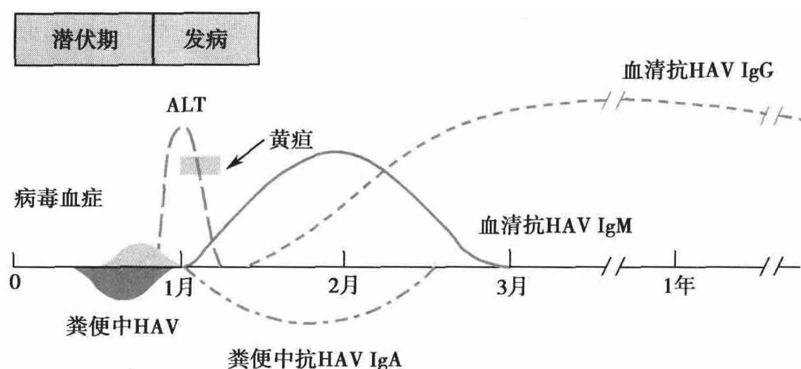


图25-3 甲型肝炎时HAV和抗HAV的消长情况

四、防治原则

1. 一般预防措施采取以切断传播途径为主的综合性预防措施。主要是加强卫生宣传、严格管理和改善饮食、饮水和环境卫生、注意个人卫生、防止病从口入。

2. 特异性预防措施人工主动免疫，即接种疫苗是目前最有效的特异性预防措施，主要用于学龄前和学龄儿童，以及其他易感人群。现有减毒活疫苗和灭活疫苗两种疫苗。我国用甲型肝炎减毒活疫苗（H2株或L1株），分别是从杭州和黑龙江患者粪便中分离到的HAV，经在人胚肺2倍体细胞中连续传代减毒而制成，效果良好，现已正式批准使用。我国批准使用的国外进口甲型肝炎灭活疫苗有两种，均为HAV的细胞培养物经甲醛灭活纯化后制成：①由Smithkline Beecharm公司生产的HavrixTM甲型肝炎灭活疫苗（HM175株）；②由Merck公司生产的VAQTATM甲型肝炎灭活疫苗（CR326-F′株）。进口疫苗免疫效果可维持10年左右，但价格较昂贵。HAV基因工程疫苗正在研制中。

3. 人工被动免疫可注射丙种球蛋白，用于HAV感染应急预防。在潜伏期，肌肉注射丙种球蛋白可减轻临床症状。

第二节 乙型肝炎病毒

乙型肝炎病毒（hepatitis B virus，HBV）为嗜肝DNA病毒，是乙型肝炎（曾称为血清型肝炎）的病原体，主要经输血、注射、性行为和母婴传播。HBV感染后临床表现呈多样性，可表现为重症肝炎、急性肝炎、慢性肝炎或无症状携带者，其中部分慢性肝炎可演变成肝硬化或肝癌。包括中国在内的东南亚、非洲等国家为HBV感染的高流行区（感染率超过8%），全世界HBsAg携带者约3.5亿人，其中我国约有1.2亿人。

目前将HBV以及与其分子结构、生物学特性相似的病毒归为嗜肝DNA病毒科（Hepadnaviridae），其下设两属，分别是感染哺乳动物的正嗜肝DNA病毒属（*Orthohepadnavirus*）及感染禽类的禽嗜肝DNA病毒属（*Avihepadnavirus*），前者主要包括HBV、土拨鼠肝炎病毒（woodchuck hepatitis virus，WHV）、地松鼠肝炎病毒（ground squirrel hepatitis virus，GSHV）及毛猴乙型肝炎病毒（woolly monkey hepatitis virus，WMHBV）等；后者主要包括鸭肝炎病毒（duck hepatitis virus，DHV）及苍鹭乙型肝炎病毒（heron hepatitis virus，HHBV）等。

一、生物学性状

形态与结构　感染者血清中用电镜观察可见三种不同形态的HBV颗粒，即大球形颗粒、小球形颗粒和管形颗粒（图25-4）。

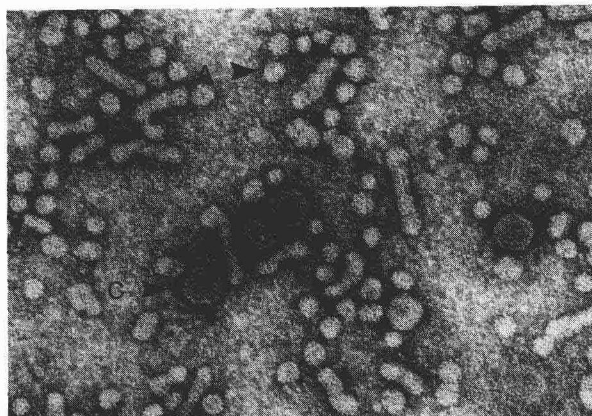


图25-4A HBV电镜图（×400000）
图中可见呈较大球形的Dane颗粒（C）、小球形颗粒（A）和管形颗粒（B）

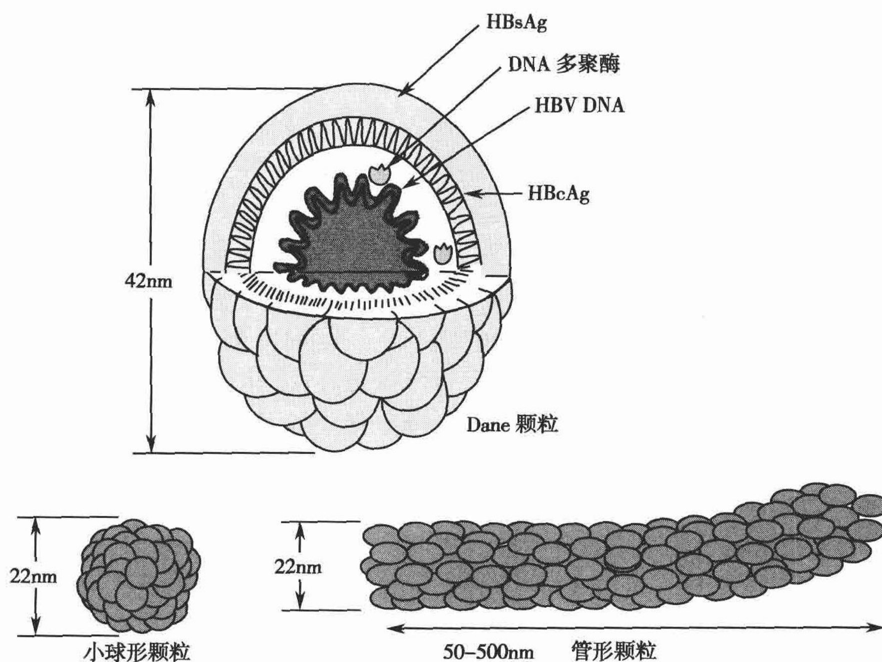


图25-4B HBV 三种颗粒模式图
图片引自 http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books

1. 大球形颗粒（large spherical particle） 亦称Dane颗粒，患者血清中的浓度约10^4 ~ 10^9/ml，是具有感染性的完整成熟的HBV，呈球形，直径42nm。病毒外层有7nm厚的包膜，由来源于宿主细胞的脂质双层与病毒编码的包膜蛋白组成。包膜蛋白主要由乙型肝炎病毒表面抗原（hepatitis B surface antigen，HBsAg）及少量的前S1抗原（PreS1 Ag）和前S2抗原（PreS2 Ag）共同组成。内层为电子密度较大的病毒核心（核衣壳）结构，呈二十面体立体对称，直径约27nm，由乙型肝炎病毒核心抗原（hepatitis B core antigen，HBcAg）构成。HBV核心内部含有环状部分双链的DNA和DNA多聚酶。

2. 小球形颗粒（small spherical particle） 直径22nm，主要成分为HBsAg，一般很少含PreS1和PreS2，不含HBV DNA和DNA多聚酶，无感染性。在乙型肝炎患者血液中大量存在，约为10^{13}/ml。

3. 管形颗粒（tubular particle） 直径22nm，长约50～500nm，是由小球形颗粒“串联”而成，无感染性。

HBV基因结构及抗原组成

HBV基因组为环状、部分双链DNA（图25-5），由长链和短链组成。长链为负链，具有固定长度约3200个核苷酸，短链为正链，长度可变，约为长链的50%～99%。长链和短链的5′端固定，以250～300个互补的碱基对形成和维持HBV DNA分子的环状结构，这一配对区域称为黏性末端（cohesive end）。在黏末端两侧各有11bp组成的直接重复（direct repeat，DR）序列，分别为DR1和DR2区。是病毒DNA成环与复制的关键序列。负链DNA的5′末端与HBV DNA聚合酶的末端蛋白（terminal protein，TP）共价结合，在正链的5′末端则有一段短的核苷酸序列，它们是引导DNA合成的引物。

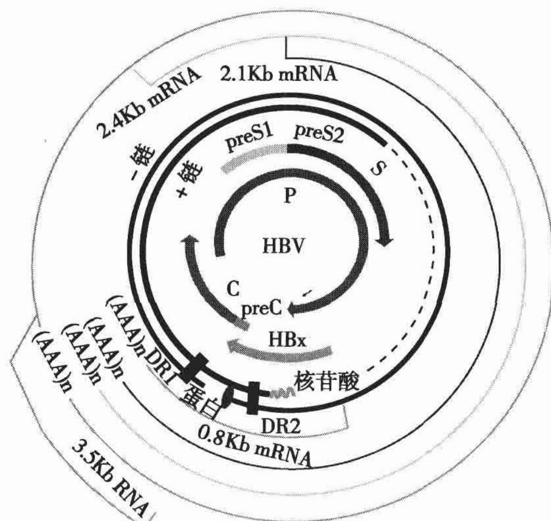


图25-5 HBV基因结构模式图

HBV负链DNA有4个开放读码框（ORF），分别称为S、C、P和X区（图25-5），其中，P区分别与S、C和X区相互重叠。

1. S区 S区基因由S基因、PreS1基因与PreS2基因组成。S区基因受SP1及SP2启动子调控，前者的转录产物为2.4kb mRNA，编码表面抗原大蛋白（large protein），后者转录产物为2.1kb mRNA，编码表面抗原中蛋白（middle protein）及主蛋白（main protein）。

HBV包膜蛋白包括：①主蛋白：即HBsAg，由S基因编码的226个氨基酸组成；②中蛋白：由S基因和PreS2基因编码的HBsAg和PreS2Ag共同构成，共281个氨基酸；③大蛋白：由S、PreS2和PreS1基因编码的HBsAg、PreS2Ag 和PreS1Ag共同构成，共400个氨基酸。Dane 颗粒的表面抗原含有主蛋白、中蛋白和大蛋白；小球形颗粒的表面抗原几乎全部由主蛋白HBsAg构成。HBsAg具有抗原性，其中第124～147位氨基酸组成了抗原性很强的序列，称为a抗原决定簇，能刺激机体产生保护性抗体，即抗HBs，因此HBsAg是制备疫苗的最主要成分。

HBV可分为adr、adw、ayr、ayw4种主要血清型。各血清型除具有共同的抗原决定簇a外，还有两组相互排斥的抗原决定簇d、y和w、r。HBV血清型分布有明显的地区差异，并与种族有关，如欧美主要是adw型，我国汉族以adr为多见，而新疆、西藏、内蒙古等少数民族以ayw为主。

2. C区 由前C（PreC）基因和C基因组成，编码e抗原（HBeAg）和核心抗原（HBcAg）。

HBeAg前体翻译开始于PreC基因第1个密码子，大小为210个氨基酸（包括PreC基因编码的29个氨基酸及C基因编码的181个氨基酸），该前体经切除N端19个氨基酸以及C端34个富含精氨酸的肽段后形成分泌性HBeAg，存在于血清中。HBeAg消长与病毒颗粒及病毒DNA多聚酶的消长基本一致，故可作为HBV复制及具有强传染性的指标之一。HBeAg具有抗原性，能刺激机体产生抗HBe-Ab，该抗体的确切作用目前尚不清楚。

HBcAg由C基因编码产生，为HBV衣壳蛋白。存在于Dane 颗粒核衣壳表面，也分布于感染的肝细胞核、胞质和胞膜上。因HBcAg外面包裹 HBsAg，一般不易游离于血循环中，故不易从患者血清中检出。但HBcAg可在肝细胞膜表面表达，抗原很强，可诱导宿主CTL细胞反应，并能刺激机体产生非保护性抗HBc抗体。

3. P区 P基因编码HBV DNA多聚酶，大小为845个氨基酸。该酶含4个功能区域，分别为末端蛋白区（terminal protein，TP）、间隔区（spacer）、聚合酶/反转录酶区（DNA polymerase/Reverse transcriptase，DNApol/RT）及RNA酶H区（RNase H）。

HBV DNA多聚酶具有多种活性，在HBV复制的不同阶段起作用，包括引物酶活性（合成复制

所需引物），DNA依赖的DNA聚合酶活性（合成正链DNA及修补双链缺口）、RNA依赖的DNA聚合酶活性（将前基因组RNA反转录成负链DNA）及RNA酶H活性（降解RNA-DNA杂交体）此外，近年来的研究表明，该酶在HBV抗α干扰素过程中起重要作用。

4. X区　X区基因转录产物为0.8kb mRNA，编码的X蛋白（HBx）是一种多功能蛋白，不仅具有广泛的反式激活功能，而且可以通过许多复杂途径参与细胞的凋亡、DNA修复的调控、与P53的相互作用以及促进细胞周期的进程等，与肝癌的发生、发展密切相关。

HBV复制　HBV的复制过程（图25-6）大致如下：①HBV感染肝细胞，通过PreS1和PreS2与肝细胞受体特异吸附、结合并穿入肝细胞内，在胞浆中脱去衣壳；②HBV DNA进入核内，在HBV DNA多聚酶作用下补全双链缺口，形成超螺旋的共价闭合环状DNA（covalently closed circular DNA，cccDNA）；③在胞核中细胞RNA多聚酶Ⅱ作用下，以负链DNA为模板转录形成亚基因组RNA及全基因组RNA，前者包括0.8kb、2.1kb、2.4kb三种mRNA，后者为3.5kb RNA，它具有双相功能（bifunctional），既作为mRNA编码HBV蛋白，又作为合成子代DNA的模板（此时称为前基因组RNA，pregenomic RNA，pgRNA）；④在胞浆中，0.8kb mRNA编码HBx，2.1kb mRNA编码PreS2+HBsAg（表面抗原中蛋白）及HBsAg，2.4kb mRNA编码 PreS1+PreS2+HBsAg（表面抗原大蛋白），3.5kb RNA编码DNA多聚酶、HBcAg以及HBeAg前体蛋白；⑤HBV DNA多聚酶、3.5kb pgRNA及HBcAg包装成核心颗粒。在核心颗粒内，HBV DNA多聚酶将3.5kb pgRNA反转录为全长HBV负链DNA，同时在该酶作用下RNA链被水解，进而以负链DNA为模板合成互补的部分正链DNA；⑥核心颗粒进入内质网，在获得包膜蛋白（主要是HBsAg）后形成完整的病毒颗粒，以芽生方式释放到肝细胞外，重新感染其他肝细胞。

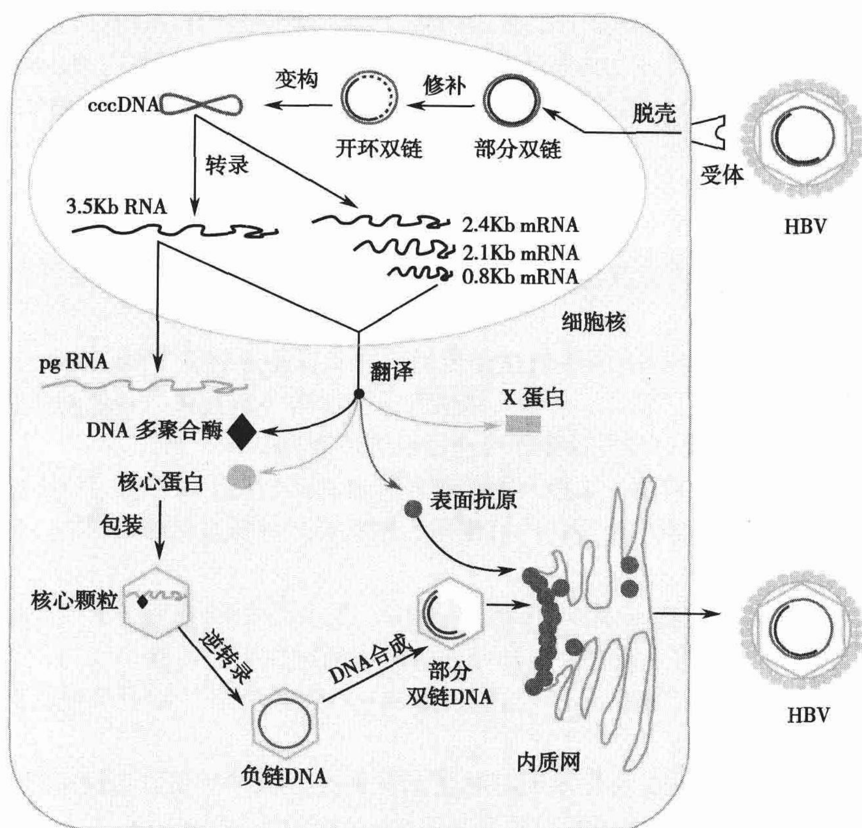


图25-6　HBV复制过程示意图

HBV基因型　按核苷酸序列差异≥8%为不同基因型的判断标准，HBV可分为A～H共8种基因型。HBV基因型的分布具有人种和地域性的特征。我国以B和C两种基因型为主，也有少量的A和D基因型和B/C基因型混合感染，其中北方以C型为多，南方以B型占优势，各省之间不完全相同。近年来研究发现，HBV基因型与HBV流行病学特点、HBV标志物的表达、致病性、乙型肝炎的病程及转归及对药物的敏感性有关，具有非常重要的意义。HBV基因型与血清型的对应关系大致为A型与adw，B型与adw，C型与adr、adw和ayr，D型与ayw。

HBV变异　HBV DNA多聚酶缺乏校正（proof-reading）功能，不能纠正病毒复制中产生的变异，较易发生变异。HBV基因变异可影响病毒的生物学行为和机体对病毒的反应。HBV变异可见于各个基因区，特别是前S/S基因、前C/C基因较易突变最有意义的S基因变异是编码HBsAg"a"决定簇基因变异。已发现S基因中编码第145位，或编码第126位氨基酸的基因点突变，导致氨基酸替代变化从而严重影响HBsAg"a"决定簇的结构与功能。此外，前C基因1896位核苷酸点突变由A替代G，使该区编码的第28位氨基酸由色氨酸（TGG）变为终止密码（TAG），表现为HBeAg阴性（e minus）。C基因启动子1762/1764核苷酸发生变异，可使HBeAg表达受抑制（e suppression）。

易感动物和细胞培养　黑猩猩对HBV易感，是研究HBV的最佳动物模型。此外，嗜肝DNA病毒科的其他成员如鸭乙型肝炎病毒、土拨鼠肝炎病毒及地松鼠肝炎病毒等可在其相应的天然宿主中构成类似人类乙型肝炎的感染，因此可用这些动物作为实验动物模型，我国常用鸭乙型肝炎病毒感染模型进行抗病毒药物筛选以及免疫耐受机制的研究。HBV体外细胞分离培养尚未成功。目前采用全基因组、1.2倍体或1.3倍体HBV DNA转染肝癌细胞进行HBV扩增，被转染的肝癌细胞可表达所有的HBV抗原并可进行病毒复制。这些细胞培养系统可用于抗HBV药物的筛选、及HBV致病机制的研究等。

抵抗力　HBV对理化因素的抵抗力很强，对低温、干燥、紫外线均有抵抗性，不被70%乙醇灭活。高压蒸汽灭菌（121.3℃ 20分钟）、100℃ 10分钟等可灭活HBV。0.5%过氧乙酸、5%次氯酸钠、3%漂白粉液、0.2%苯扎溴铵以及环氧乙烷等可破坏HBV的包膜，故常用于针对HBV的消毒。上述化学消毒剂可使HBV失去感染性，但仍可保持HBsAg的抗原性。

二、致病性与免疫性

传染源和传播途径　主要传染源是乙型肝炎患者及无症状HBsAg携带者，后者多为慢性携带者，作为传染源危险性更大。

乙型肝炎传播途径主要是经血或注射途径传播，即非胃肠道感染（parenteral infection）。凡含有HBV的血液或体液（唾液、乳汁、羊水、精液和分泌物等）直接进入或通过破损的皮肤、黏膜进入体内皆可造成传播。此外，母婴传播和性途径也可传播HBV。

1. 血液、血制品等医源性传播　血液及血浆等各种血制品、采血、注射、手术、拔牙、预防接种、针刺（纹身）、内镜等医院各种医疗器具均可传播乙型肝炎。加强对献血员筛查、控制医源性传播可降低乙型肝炎的发病率。

2. 母婴传播　受染的母亲将HBV传给胎儿和（或）婴儿的过程。经宫内感染约占5%～10%；主要是围产期感染，即分娩时，来自母体的病毒通过新生儿的微小伤口侵入婴儿体内感染所致；也可通过哺乳而传播。HBsAg和（或）HBeAg阳性的母亲，如不接种乙肝疫苗，其婴儿被感染的机会大。

3. 生活密切接触传播　HBV感染呈明显的家庭聚集性。HBV感染者可通过日常生活密切接触传播给家庭成员。通过唾液、共用牙刷和剃须刀等均可引起HBV感染。

4. 性传播　从HBV感染者的精液和阴道分泌物中可检出HBV，配偶为HBsAg阳性者较家庭中其他成员更易感染HBV，这些均支持HBV可以经性途径传播。在我国等HBV高流行区性途径不是HBV的主要传播方式。但在低流行区，HBV感染主要发生在性乱者和静脉药瘾者中，故西方国家

将乙型肝炎列为性传播疾病（STD）的范围。

致病机制 乙型肝炎的临床表现呈多样性，可表现为无症状病毒携带者、急性肝炎、慢性肝炎及重症肝炎等。HBV的致病机制十分复杂，除了HBV对肝细胞直接损害外，主要是通过宿主的免疫应答以及病毒与宿主间的相互作用引起肝细胞的病理改变所致，其中有些问题尚待进一步研究。

1. 细胞介导的免疫病理损伤 乙型肝炎时CTL是导致肝细胞免疫损伤的主要效应细胞，而CTL针对的靶抗原主要是HBcAg。当CTL识别受染的肝细胞表面的HBcAg后，可以产生穿孔素（perforin）和颗粒酶（granzyme），使肝细胞膜受损破坏、死亡。或CTL通过表达的Fas配体（Fas ligand，FasL），与感染HBV的肝细胞表面Fas结合，引发肝细胞凋亡。此外，乙型肝炎患者血清中Th细胞等免疫活性细胞可产生γ-IFN、IL-1、IL-6、TNF-α等炎性细胞因子，导致肝细胞炎症和变性坏死，加重肝细胞受损。

免疫损伤和细胞凋亡是机体清除HBV的一种防卫机制。通过溶解破坏感染HBV的肝细胞，使HBV得到清除，肝细胞病变得到修复。有人认为细胞免疫应答的强弱与临床过程的轻重与转归有密切关系。当病毒感染少量肝细胞时，CTL可将病毒感染细胞全部杀伤，HBV释放于细胞外，可被抗体中和，临床表现为急性肝炎，并可恢复而痊愈；若病毒感染细胞数量多时，引起细胞免疫应答超过正常范围，会迅速引起大量细胞坏死，表现为重症肝炎；若机体免疫功能低下，CTL不能将大量复制病毒的靶细胞杀伤，病毒仍可不断释放，又无有效的抗体中和病毒，病毒则持续存在并不断感染肝细胞，导致慢性肝炎；慢性肝炎又可促进纤维细胞增生，则发生肝硬化；如果机体对HBsAg免疫应答低下，产生耐受则出现无症状HBsAg携带状态。若血清中HBsAg持续阳性超过6个月者，称为慢性HBsAg携带者。

2. 体液免疫所致的免疫损伤 在急、慢性乙型肝炎患者血循环中，可检出HBsAg及抗 HBs或HBeAg及抗HBe的抗原抗体复合物。这些免疫复合物如沉积于周围组织的小血管壁，可引起Ⅲ型超敏反应，临床上出现各种相关的肝外症状，主要表现为短暂发热、膜性肾小球肾炎、皮疹、多发性关节炎及小动脉炎等，其中以肾小球肾炎最被重视。如果免疫复合物于肝内大量沉积，引起毛细血管栓塞，可诱导肿瘤坏死因子（TNF）产生而导致急性肝坏死，临床表现为重症肝炎。

3. 自身免疫所致的损伤 HBV感染肝细胞后，在肝细胞表面不仅有病毒的特异性抗原表达，还会引起肝细胞表面自身抗原的改变，暴露出膜上肝特异性脂蛋白抗原（liver specific protein，LSP）和肝细胞膜抗原（LMAg）。LSP和LMAg可作为自身抗原诱导机体产生自身抗体，通过K细胞介导的ADCC效应引起自身免疫应答，或通过CTL的杀伤作用或释放细胞因子的直接或间接作用损害肝细胞。慢性乙肝患者血清中常可测到LSP的抗体或抗核抗体、抗平滑肌抗体等自身抗体。

HBV与原发性肝癌 近年研究资料表明，HBV感染与原发性肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）的发生有密切关系，其依据是：①流行病学调查表明，乙型肝炎患者及HBsAg携带者的原发性肝癌发生率明显高于未感染人群。感染人群比未感染人群发生肝癌的危险性高217倍；②HBV编码的HBx具有广泛的反式激活功能及其他生物学活性，肝细胞转染HBx基因后可导致细胞周期、凋亡及侵袭力等变化，提示HBx与肝癌的发生、发展密切相关；③绝大部分肝癌组织基因组由HBV DNA整合。HBV DNA整合导致细胞DNA的不稳定，还可促进邻近的细胞原癌基因的转录，促进肿瘤发生；另一方面，整合的HBV DNA 片段50%为3’端缺失的X基因，所编码的羧基端缺失的HBx具有更强的反式激活功能，此外，在整合的HBV DNA 中还发现3’端缺失的pres2/S基因片段，所编码的羧基端缺失的表面抗原中蛋白也具有很强的反式激活功能；④新生土拨鼠感染土拨鼠肝炎病毒后，经3年饲养100%可发生肝癌，而未感染鼠则无一发生肝癌，说明感染哺乳动物的嗜肝DNA病毒可导致相应宿主肝癌。

三、微生物学检查法

对乙型肝炎进行实验室诊断，最常采用血清学方法检测患者血清HBV标志物。近年也采用

PCR技术对乙型肝炎进行研究和辅助诊断。

HBV抗原、抗体的检测　检测HBV抗原、抗体常用的方法有RIA、EIA法、对流免疫电泳、双向琼脂扩散法等，其中最常用的方法为EIA。主要检测HBsAg和抗HBs、HBeAg和抗HBs，以及抗HBc IgM和抗HBc IgG。必要时也可检测PreS1和PreS2的抗原和抗体（表25-2）。

表25-2　HBV感染血清标志及其临床意义

HBsAg	HBeAg	抗HBc		抗HBe	抗HBs	结果分析
		IgM	IgG			
+	−	−	−	−	−	无症状携带者
+	+	−	−	−	−	急性乙型肝炎潜伏期
+	+	+	−	−	−	急性乙型肝炎早期
+	+/ −	+	+	−	−	急性乙型肝炎后期
+	+	+/ −	+	−	−	慢性乙型肝炎急性发作
+	−	−	+	+	−	慢性乙型肝炎，无或低HBV复制
−	−	−	+	+	+	乙型肝炎恢复期
−	−	−	−	−	+	接种过乙肝疫苗，有免疫力

1. HBsAg和抗HBs　血中检出HBsAg为机体感染HBV的重要标志之一。HBsAg阳性多见于：①急性乙型肝炎的潜伏期和急性期，检出率约70%；②慢性乙型肝炎、慢性乙型肝炎肝硬化、慢性HBsAg无症状携带者，以及某些原发性肝癌患者中HBsAg可持续阳性。在抗HBV的各种特异性抗体中，抗HBs出现最晚。抗HBs阳性为HBV感染恢复的标志，表示患者获得对HBV特异性免疫力，预后良好；若为乙肝疫苗接种者则标志对HBV产生了免疫力。

2. HBcAg和抗HBc　HBcAg存在于HBV核衣壳表面，或位于感染的肝细胞中，血中不易检测到，故不用于HBV标志物的常规检查。

抗HBc包括抗HBc IgM和抗HBc IgG两部分抗体。抗HBc IgM阳性表示体内有病毒复制，可出现于急性乙型肝炎和慢性乙型肝炎急性发作期。前者血清中抗HBc IgM滴度很高，后者则血清抗HBc IgM滴度较低。抗HBc IgG出现较抗HBc IgM晚，但在血中持续时间很长，表示感染呈慢性过程或感染过HBV。因此，根据抗HBc IgM滴度的高低以及血清中抗HBc IgG检出情况，可区别急性乙型肝炎和慢性乙型肝炎急性发作。检出高效价抗HBc，特别是抗HBc IgM则表示HBV在肝内处于复制状态。

3. HBeAg和抗HBe　HBeAg在HBV感染的早期出现，常与HBsAg和Dane颗粒同时出现，且与HBV DNA多聚酶在血中的动态消长也基本一致，因此，HBeAg可作为HBV复制及血液有传染性的标志。感染者在HBeAg逐渐阴转的同时抗HBe开始出现，表明获得一定免疫力，预后良好，但出现变异株者例外。如HBV前C 区或C 区启动子变异，HBeAg不能表达或表达量极度降低，虽然可出现HBeAg阴性以及抗HBe阳性情况，但血清中HBV DNA阳性，表明病毒在体内复制。抗HBe亦见于HBsAg携带者及慢性乙型肝炎患者血清中。

4. PreS1、PreS2和抗PreS1、抗PreS2　由于PreS1和PreS2先于HBV DNA出现，且与HBsAg、HBeAg、HBV DNA及HBV DNA多聚酶呈正相关，因此可作为HBV新近感染的标志，表示有HBV复制及血液有传染性。PreS1和PreS2的抗原性比HBsAg更强，因此抗PreS1、抗PreS2是HBV感染后最早出现的抗体，与抗HBs一样亦为中和抗体，提示机体开始清除病毒。因此有人认为添加前S蛋白可增加现有乙肝疫苗的免疫效果。前S蛋白和抗前S一般不作为临床常规检测项目。

血清HBV DNA检测　血清HBV DNA是HBV感染、复制、血液有传染性的直接标志。一般用斑点杂交法以及PCR技术进行检测。特别是定量PCR能测出DNA拷贝数量，不仅可用于乙型肝炎的诊断，还可观察血清HBV DNA的动态变化，作为药物疗效的考核标准。但一般不单独依靠PCR

进行临床诊断。

HBV抗原、抗体在感染机体内消长情况与临床表现相关情况见图25-7。

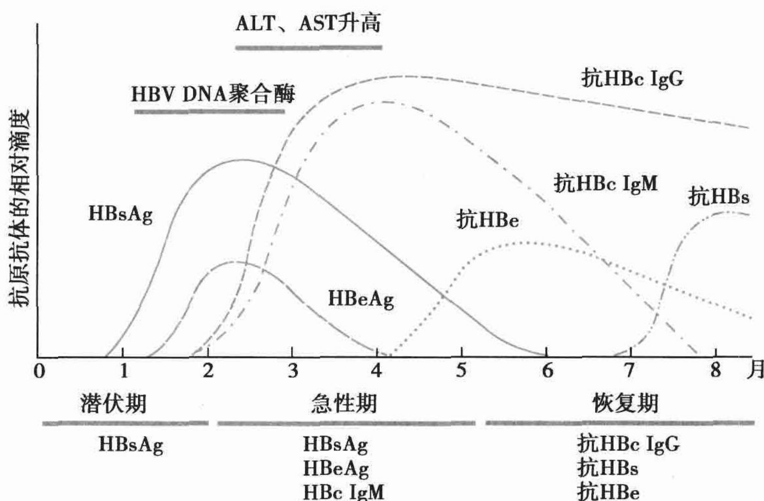


图25-7 急性乙型肝炎血清学标志变化及临床表现

四、防治原则

一般预防措施 预防乙型肝炎主要实行严格管理传染源和切断传播途径为主的综合性措施。对乙肝患者及携带者的血液、分泌物和用具等要严格消毒灭菌；严格筛选献血员，加强对血液和血制品的管理；防止医源性传播，提倡使用一次性注射器及输液器；凡手术操作、医疗器械等也必须严格消毒；对高危人群要进行特异性预防。

主动免疫 接种乙型肝炎病毒疫苗是最有效的预防措施。乙型肝炎病毒疫苗有两种，即HBsAg血源疫苗和基因重组疫苗。血源疫苗亦称第一代疫苗，是从血中提纯的HBsAg，经甲醛灭活制成，具有良好免疫原性。由于来源及安全问题，乙型肝炎血源疫苗已停止生产和使用。第二代疫苗为基因工程疫苗，是将HBsAg在酵母中高效表达并经纯化制成的疫苗。基因工程疫苗排除了血源疫苗来源困难以及可能存在未知病毒引起感染的可能，具有免疫原性好、可大量制备、费用较低等特点，目前在世界各国普遍使用。我国目前规定新生儿和易感人群全面开展HBsAg疫苗接种。新生儿应用此疫苗免疫3次（出生后第0、1、6月）后，抗-HBs阳性率达90%以上；用疫苗免疫HBsAg阳性母亲的婴儿，保护率可达80%以上。另有HBsAg多肽疫苗或HBV DNA疫苗尚在研究之中。

被动免疫 乙肝免疫球蛋白（HBIg）是由含有高效价抗HBs人血清提纯而成，可用于紧急预防。主要用于以下情况：①医务人员或皮肤损伤被乙型肝炎患者血液污染伤口者；②母亲为HBsAg、HBeAg阳性的新生儿；③发现误用HBsAg阳性的血液或血制品者；④HBsAg、HBeAg阳性者的性伴侣。

新生儿被动-主动免疫可先注射HBIg，间隔1～2周后再全程接种乙肝疫苗，可提高阻断母婴传播率。

目前治疗乙型肝炎的药物主要包括核苷（酸）类似物及α-干扰素（Interferon-α，IFN-α）。核苷（酸）类似物包括拉米夫定、阿德福韦酯、恩替卡韦及替比呋啶等，通过抑制DNA多聚酶抑制HBV复制，产生耐药是此类药物的主要缺点。α-干扰素通过JAK-STAT通路发挥其抗病毒作用：首先，IFN-α与其受体INFAR1及INFAR2结合并分别激活与之相连的TyK2（Tyrosine Kinase 2）及JAK1（Janus Kinase 1），激活后的JAK1可磷酸化激活胞浆中存在的STAT1和STAT2（Signal Transducers and Activators of Transcription，STAT），磷酸化后的STAT1和STAT2与胞浆内的IRF9（IFN Regulatory Factor 9）形成复合体ISGF3（IFN Stimulated Gene Factor 3）并转移至胞核，随

后与效应基因启动子区的ISRE（IFN-Stimulated Response Element）结合，促进效应基因的转录。目前认为IFN-α诱导的抗病毒效应基因主要有三种，其一为PKR（Double-RNA dependent Protein Kinase），它通过磷酸化并灭活真核细胞翻译起始因子2α亚基（eIF-2α）抑制病毒蛋白的合成；其二为2′-5′ OAS（2′-5′ Oligoadenylate Synthetase），它催化产生2′-5′寡聚腺苷酸，进而结合并激活RNaseL，最终降解胞浆中的mRNA及rRNA，抑制病毒蛋白的表达；其三为MxA，属于GTP激酶（GTPases），可干扰病毒核蛋白复合物的运输及转录活性，导致病毒蛋白表达的抑制。α-干扰素具有治疗周期短、无针对性耐药、免疫调节、停止治疗后个体对药物的持续反应时间长等多种优点，但总体有效率仅为30%左右。

第三节 丙型肝炎病毒

HCV是有包膜的单股正链RNA病毒，鉴于其基因结构与表型特征（如脂质包膜以及病毒蛋白的亲、疏水性等）与黄病毒和瘟病毒相似，目前将HCV归于黄病毒科（Flaviviridae）丙型肝炎病毒属（*Hepacivirus*）。

丙型肝炎病毒感染呈全球性分布，主要经血或血制品传播。HCV感染的重要特征是感染易于慢性化，急性期后易于发展成慢性肝炎，部分患者可进一步发展为肝硬化或肝癌。

一、生物学性状

形态结构　迄今为止，一直还没有在电镜下直接和确切地观察到HCV病毒颗粒。但在浓缩的感染者血清、感染HCV的黑猩猩肝细胞以及体外组织细胞培养中均观察到了基本相似的HCV病毒样颗粒（virus-like particle，VLP）。颗粒大致呈球形，直径约50nm，有包膜和表面突起。

基因结构　HCV基因组为单正链RNA（positive sense ssRNA），长约9.5kb，由5′末端非编码区（5′ NCR）、编码区及3′末端非编码区构成（图25-8）。HCV的5′ NCR核苷酸序列在基因组中最保守。由于5′ NCR的保守性，此为设计诊断HCV RNA 的PCR引物首选部位。5′ NCR内含有内部核糖体进入位点（internal ribosome entry site，IRES）为起始翻译所必需。HCV的编码区占基因组全长的95%。仅含有单一的开放读码框（ORF），编码大小为3010～3033个氨基酸的多聚蛋白前体，该前体蛋白在病毒蛋白酶及宿主信号肽酶作用下，切割为至少10个蛋白，其中3个为结构蛋白，分别是核心衣壳蛋白（C），包膜蛋白1（E1）及包膜蛋白2（E2），6个为非结构蛋白（NS2～NS5B），其中，NS3具有解旋酶（helicase）、丝氨酸蛋白酶（serine protease）及金属蛋白酶（metalloprotease）活性，NS5具有依赖RNA的RNA多聚酶活性。此外，NS1蛋白与病毒装配有关，但属于结构或非结构蛋白尚有争论。HCV基因组3′ NCR核苷酸序列以及长度变异较大，3′ NCR对HCV RNA结构稳定性的维持及病毒蛋白的翻译有重要功能。

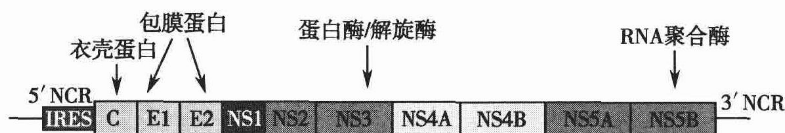


图25-8 HCV基因结构

HCV基因组从5′端至3′端依次为5′端非编码区（5′ NCR）、编码区及3′端非编码区（3′ NCR）编码区含单一开放读码框，编码至少10种蛋白

复制过程　HCV的复制发生于膜相关的复制复合物内。与其他黄病毒相似，HCV的复制周期由以下若干步骤组成（图25-9）：① HCV借助氨基葡聚糖黏附并聚集于宿主细胞表面，与宿主细胞表面的CD81等受体分子结合，依赖受体介导的细胞内吞作用穿入宿主细胞并将其基因组RNA释放

入细胞浆；②进入宿主细胞浆的HCV基因组RNA作为模板，翻译出蛋白前体并裂解修饰为结构蛋白和非结构蛋白，并形成一个与细胞内膜状结构相结合的病毒复制酶复合物；③以侵入的HCV正链RNA为模板合成负链RNA作为复制中间体；④以负链RNA为模板合成正链RNA，正链RNA可以重新用于合成新的负链RNA、表达多聚蛋白以及作为基因组被包装入子代病毒粒子；⑤病毒粒子从感染细胞释放。

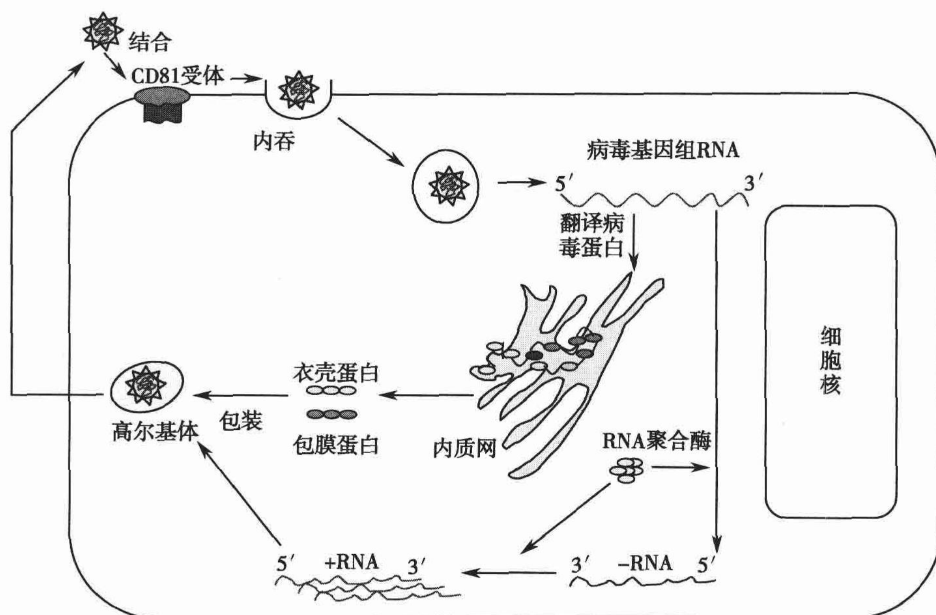


图25-9 HCV复制过程示意图

基因分型和准种　HCV最大特点为基因组的高度变异性，不同HCV分离株的核苷酸及氨基酸同源性有较大的差异，因此对HCV进行分型有助于了解各地区HCV的流行及进化情况，为HCV的诊断、治疗、预防等提供理论基础。HCV变异性主要表现在基因型、亚型、准种（quasispecies）及株等4个层面。HCV基因分型是根据其核苷酸序列的同源性（homology）以及彼此间的进化关系（phylogenesis）确定的。用于分型的基因区域和方法有多种，但公认的为1993年Simmonds等建立的进化树（phylogenetic tree）分型法，该法基于HCV NS5区基因序列及进化关系将HCV分为6个基因型（用阿拉伯数字表示），型内再分亚型（以英文小写字母表示），即1a、1b、1c、2a、2b、2c、3a、3b、4a、5a、6a等11个基因亚型。欧美流行株多为1a、1b、2a、2b和3a较为常见，中国大陆多见1b和2a两型，且以1b型为主，南方城市（南京、南宁、成都）1b型占90%以上，北方城市（哈尔滨、沈阳、兰州）2a型占46%～70%。

HCV基因组中E1/E2区易发生变异，特别是E2区的变异性最大。E2区内有两个高变区（hypervariable region，HVR），与HCV的免疫逃逸机制有关。由于E2区不断变异形成许多核酸序列不同的HCV变异株，表现为同一感染者体内同时存在同一基因亚型的不同变异株的HCV感染现象，由此形成的HCV同一基因亚型内不同基因异质性群体称为HCV准种。这种基因变异与丙型肝炎易发展成慢性肝炎、HCV易形成免疫逃逸株以及疫苗研制困难等有密切的关系。

易感动物及抵抗力　HCV可感染黑猩猩，并可在其体内连续传代，黑猩猩是目前唯一理想的动物模型。目前广泛使用的HCV体外复制细胞模型是JFH-1/HCVcc（HCV cell culture），由2a型HCV RNA（JFH-1株）构建而成，能自我复制并具感染性。

HCV对各种理化因素的抵抗力较弱，对酸、热均不稳定，HCV对氯仿、乙醚等有机溶剂敏感，紫外线照射、100℃ 5分钟煮沸、20%次氯酸、甲醛（1∶6 000）处理均可使HCV失活。血液或血液制品经60℃处理30小时后可完全灭活HCV。

二、致病性与免疫性

致病性 HCV主要经血传播，因此丙型肝炎过去称为输血后肝炎。此外，性传播、母婴传播和家庭内接触也可传播HCV。丙型肝炎患者和HCV阳性血制品为主要传染源。同性恋者、静脉药物依赖者以及接受血液透析的患者为高危人群。本病潜伏期2～17周，平均10周，但由输血或血制品引起的丙型肝炎潜伏期较短，大多数患者不出现症状或症状较轻，发病时已呈慢性过程。慢性丙型肝炎症状轻重不一，约有20%的患者可逐渐发展为肝硬化或肝癌。

目前认为HCV的致病机制包括病毒对肝细胞的直接损害、宿主的免疫病理损伤以及细胞凋亡导致肝细胞破坏等三个方面：①HCV直接致病作用可能与病毒在肝细胞内复制，导致肝细胞结构和功能的改变，或病毒干扰细胞蛋白质的合成，引起肝细胞变性、坏死等急性病理改变，使得肝细胞膜对转氨酶的通透性增加；②实验证明免疫因素是肝细胞损伤致病的重要机制。如CTL攻击病毒感染的靶细胞所致的肝细胞损伤在慢性HCV感染中占重要的作用。另外，丙型肝炎患者血液中TNF-α、sIL-2R等细胞因子水平明显增高，可介导肝细胞受损；③Fas系统介导的细胞凋亡在HCV致病机制中也起一定的作用。可能HCV刺激肝细胞大量表达Fas抗原，同时被激活的CTL大量表达Fas配体（FasL），两者结合导致肝细胞凋亡。一般情况下，这种激活引起的细胞凋亡有利于CTL清除HCV感染的细胞。但如果Fas基因表达过度，则会引起过多肝细胞损害，严重者可导致暴发性肝炎、急性肝坏死等。

免疫性 HCV感染后，患者体内先后出现抗HCV的IgM型和IgG型抗体，但出现时间较晚，感染后平均82天才出现抗HCV抗体。由于在同一个体内HCV感染存在并不断出现大量的HCV准种，即不断出现HCV的免疫逃逸株，故抗HCV抗体的保护作用不强。在免疫力低下人群中，HBV和HCV可同时感染，常导致疾病加重。

三、微生物学检查法

目前临床HCV的检测包括抗HCV抗体的检测、HCV抗原的检测以及HCV RNA的定性和定量检测。抗HCV的检测是诊断HCV感染的最常用的实验室方法，用于筛选输血员，诊断丙型肝炎以及评价治疗效果。一般抗HCV IgM或IgG阳性者血中含有HCV RNA，其血液有传染性。检测HCV抗体用基因重组克隆表达的HCV蛋白质，或以合成多肽如核心蛋白C22及NS3、NS4、NS5区等非结构蛋白作为抗原，通过ELISA法、放射免疫法检测抗HCV IgG或IgM。目前应用的第3代ELISA试剂盒采用了核心蛋白C22、NS3蛋白C33以及NS5蛋白等3种抗原，故其灵敏度显著提高，检出率可达90%以上。若抗HCV IgM阳性可对HCV感染进行早期诊断。由于抗HCV出现较晚，约感染后平均82天才出现，故急性肝炎患者抗HCV阴性也不能完全排除HCV感染。检测HCV抗原主要用于早期诊断及监测疗效。检测HCV RNA检测肝组织内HCV RNA可采用原位斑点核酸杂交法。但血清中HCV RNA含量较低，多采用较灵敏的RT-nPCR进行检测，PCR引物多选用最保守的5′端非编码区序列。近年建立的HCV RNA定量PCR法不仅特异敏感,还可计算出标本中RNA拷贝数，可对干扰素治疗丙型肝炎患者的疗效进行评估。

四、防治原则

严格筛选献血员和加强血制品的管理，控制输血传播是目前丙型肝炎最主要的预防措施。根据义务献血法相关规定，抗HCV检测是筛查输血员和血制品的必须步骤。

由于HCV高度变异性以及包膜蛋白免疫性不强，给疫苗研制带来许多困难。丙型肝炎目前尚无有效的疫苗进行特异性主动免疫。被动免疫可使用HCV抗体或丙种免疫球蛋白，但效果均不肯定。

目前尚缺乏对丙型肝炎治疗的特效药物。聚乙二醇（长效）α-干扰素联合利巴韦林是临床抗HCV治疗的首选方案。

第四节 丁型肝炎病毒

HDV为缺陷病毒，需要嗜肝DNA病毒，如人乙型肝炎病毒、旱獭肝炎病毒（WHV）和鸭乙肝病毒（DHBV）等辅助病毒的帮助，才能成为成熟的病毒颗粒并具有感染性。HDV是目前已知的动物病毒中唯一具有单负链共价闭合环状RNA基因组的缺陷病毒，某些特性与植物卫星病毒或类病毒相似，但其分类学地位尚未确定。

一、生物学性状

形态与结构　完整成熟的HDV为球形颗粒，直径35～37nm，包膜为HBsAg，核衣壳为二十面体对称，病毒颗粒内部由病毒基因组RNA和与之结合的丁型肝炎病毒抗原（HDAg）组成（图25-10）。

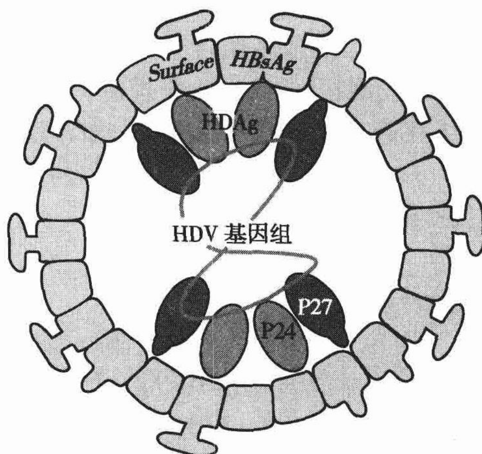


图25-10　丁型肝炎病毒模式图

HDV核心由共价闭合环状单股负链RNA基因组组成。在病毒感染的肝细胞核中还有与HDV基因组互补的RNA，称为抗基因组（antigenome）。HDV基因组与抗基因组上存在数个可编码100多个氨基酸的开放读码框（ORF），但迄今只发现位于抗基因组上的ORF可编码HDAg。HDV基因组有4个显著特征：①基因组小，仅1.7 kb，是已知的动物病毒中最小的基因组；②基因组呈环状，鸟嘌呤（G）+胞嘧啶（C）含量高达60%以上，其中70%碱基能相互配对自我折叠成稳定的二级结构；③呈滚环状复制；④基因组RNA和抗基因组RNA的内部含有一个85nt的区域，均具有核酶活性，能进行自我切割和连接。

HDV衣壳HDAg是一种核蛋白，是HDV编码的唯一的蛋白。由正链抗基因组中ORF5编码，有P24和P27两种多肽，分别称为大δ抗原（δAg-L，相对分子质量为27×10^3）和小δ抗原（δAg-S，相对分子质量为24×10^3）。前者对HDV的复制有反式激活作用，后者则反式抑制复制作用，并对HDV的包装也有重要的影响。大约60个HDAg与一个HDV基因组 RNA结合，构成二十面体对称的核衣壳。若HDAg单独被HBsAg包装，可形成不含HDV RNA的“空壳颗粒”。HDAg主要存在于肝细胞内，在血清中出现早，维持时间短，故不易检测到。但HDAg可刺激机体产生抗体，故可自感染者血清中检出抗HD抗体。

HDV包膜来自于辅助病毒HBV的包膜，包膜蛋白为HBsAg，可起保护HDV RNA的作用，并在HDV感染中发挥重要作用。HDV在许多方面需要嗜肝DNA病毒（如HBV、WHV、DHBV）的辅助，如提供衣壳，才能装配为成熟的病毒颗粒并具有感染性。

血清型和基因型　HDV只有一个血清型，HDAg在血清中常不易检测到，感染HDV后产生的抗HDV抗体无保护作用。

近来，HDV根据基因序列差异被分为8型，不同基因型之间的序列变异可高达整个RNA基因组的40%以及氨基酸序列的35%。HDV基因型具有不同的地理分布和相关的疾病谱，分布最为广泛的是HDV-1，主要源于北美、欧洲、非洲、东亚和西亚、南太平洋，与广谱的慢性肝病有关；HDV-2和HDV-4仅见于东亚地区，与该地区的部分轻型肝病有关。

易感动物　黑猩猩、东方土拨鼠、北京鸭和美洲旱獭等为HDV易感动物，可作为HDV研究的动物模型。

抵抗力　因为HDV核衣壳外包绕着HBV的包膜，故灭活HBV的方法也可灭活HDV，100℃ 10分钟或高压蒸汽灭菌法均可破坏HDV。

二、致病性与免疫性

HDV感染呈世界性分布，但各国及地区流行的程度不同。我国HBV感染者中，HDV感染率为0% ~ 10%，为低流行区。HDV的传染源为感染HBV/HDV的患者，特别是慢性感染者。HDV传播方式与HBV基本相同，主要经输血或注射传播。HDV母婴垂直传播并不多见。

HDV感染有两种形式：①同时感染（coinfection）：同一时间感染HDV和HBV，即同时发生急性乙型肝炎和急性丁型肝炎。急性乙型肝炎时HBV的复制呈一过性的，因此也限制了HDV的复制，故大多数同时感染患者的病程为自限性的，临床特征和发展成慢性肝炎的危险性类似于单纯的急性乙型肝炎。但有时HBV和HDV同时感染可表现为重型肝炎，多见于药物依赖者中。此外，同时感染者中发展成慢性的患者病情严重，可在较短时间内形成肝硬化；②重叠感染（superinfection）：在慢性乙型肝炎或HBsAg携带者基础上再感染HDV。大多数重叠感染者可发展为慢性肝炎，或使原肝脏病变及临床病程恶化，如导致暴发性肝炎、甚至死亡。

HDV致病作用主要是病毒对肝细胞的直接损伤，肝脏损伤程度与HDV RNA呈正相关。此外免疫机制也参与了其致病过程。

三、微生物学检查法

用ELISA或RIA检测血清中HBsAg 或抗HDV是常用的诊断HDV感染的方法。急性HDV感染早期可于血清中检出HBsAg，但慢性患者一般测不出，但肝活检时HBsAg 可呈阳性。抗HDV IgM于急性感染的第4 ~ 5周检出率高，有早期诊断意义。慢性丁型肝炎时，抗HDV IgG水平持续增高，可作为慢性HDV感染诊断的依据。

HDAg检测是诊断HDV感染的直接证据，但HDAg在血清中持续时间短，平均仅21天左右，因此标本采集时间是决定检出率的主要因素。部分患者可有较长时间的抗原血症，但HDAg滴度较低，故不易检出。肝内HDAg可用免疫组化方法检测，主要在肝细胞核内呈细颗粒、小球状或弥散状分布的，可作为诊断HDV感染的直接证据，并且是HDV感染活动的指标，但活检标本不易获得，故不常用。

检测核酸可采集血或肝组织标本，用斑点杂交法，或原位杂交，或PCR方法检测HDV RNA。HDV RNA的浓度与HDAg平行，且与肝脏损伤程度呈正相关。HDV RNA的存在标志着HDV复制以及血液有传染性。

四、防治原则

丁型肝炎预防原则与乙型肝炎相同。接种乙肝疫苗可预防丁型肝炎。严格筛选献血员和血制品，可防止医源性感染。HDV是缺陷病毒，凡抑制HBV增殖的药物，也能控制HDV的复制，如用重组α干扰素或γ干扰素治疗，但由于同时存在HBV和HDV感染，故丁型肝炎的抗病毒治疗效果较差。

第五节　戊型肝炎病毒

戊型肝炎病毒（hepatitis E virus，HEV）曾称为肠道传播的非甲非乙型肝炎（enterically-transmitted non-A，non-B hepatitis，ET-NANBH）病毒，是戊型肝炎（hepatitis E，HE）的病原体，1989年被正式命名。

一、生物学特性

形态与结构　HEV呈圆球状，无包膜，直径平均为32 ~ 34nm，表面有突起和刻缺，形如杯状。

HEV有空心和实心两种颗粒：实心颗粒内部致密，为完整的HEV结构；空心颗粒内部含电荷透亮区，为有缺陷的、含不完整HEV基因的病毒颗粒（图25-11）。

基因结构　HEV基因组为单正链RNA（+ssRNA），全长7.2～7.6kb，由编码区和非编码区两部分组成（图25-12）。编码区包括5′端非结构区（nonstructure region，NS）和3′端结构区（structure region，S），共有3个部分重叠的ORF。ORF1最大，约5kb，编码病毒复制所需的依赖RNA的RNA多聚酶、甲基转移酶、木瓜蛋白酶样半胱氨酸蛋白酶、RNA解旋酶等非结构蛋白；ORF2长约2kb，编码病毒的衣壳蛋白；ORF3仅300多个核苷酸，与ORF1和ORF2部分区域相互重叠，编码的细胞骨架相关的磷酸化蛋白可能通过下调宿主免疫应答而利于病毒复制，在HEV致病中起重要作用。HEV的非翻译区（UTR）较短，位于编码区的两末端，分别称为5′ UTR和3′ UTR。此外，5′ UTR具有帽状结构，3′ UTR末端有一个150～300腺苷酸残基组成的多腺苷（A）尾。

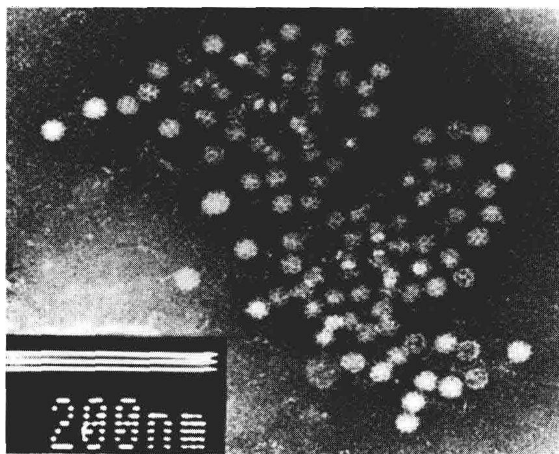


图25-11　HEV透射电镜图（负染），庄辉院士提供

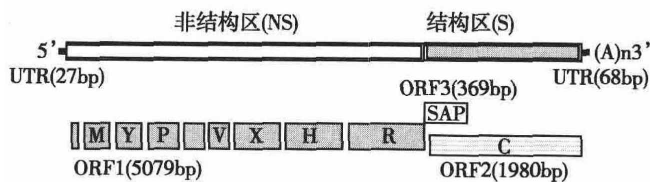


图25-12　戊型肝炎病毒基因结构

M：甲基转移酶；Y：Y区；P：木瓜蛋白酶样酶；V：脯氨酸富集铰链区；X：X区；H：RNA解链酶；R：RNA多聚酶；C：衣壳蛋白；SAP：细胞骨架相关的磷酸化蛋白

分类和分型　2002年ICTV将HEV归类于肝炎病毒科（Hepeviridae）戊型肝炎病毒属（*Hepevirus*）。目前认为世界各地HEV均为同一血清型，但不同地区的HEV基因变异较大，至少存在8个基因型。除20世纪90年代初发现的以缅甸株HEV（B）为代表的基因型Ⅰ（genotype Ⅰ）以及以墨西哥株HEV（M）为代表的基因型Ⅱ（genotype Ⅱ）以外，随后在美国和中国又分别分离到基因型Ⅲ（genotype Ⅲ）和基因型Ⅳ（genotype Ⅳ）。HEV各基因型有一定的地域性分布规律。目前从我国感染人群中分离的HEV为基因型Ⅰ和基因型Ⅳ。

理化特性　经蔗糖密度梯度离心可获得部分纯化的HEV（32～34nm）。HEV不稳定；对高盐、氯化铯、氯仿敏感。4℃或－20℃下易被破坏，4～8℃下超过3～5天会自动降解，反复冻融可导致活性下降，在液氮中能长期保存。在酸性和弱碱性环境中较稳定，Mg^{2+}和Mn^{2+}的存在对其完整性有一定保护作用，可存在于肝内胆汁和胆囊内胆汁中。

动物模型与细胞培养　用HEV感染灵长类动物，如食蟹猴、黑猩猩和家畜，如猪等均获成功。我国有用戊肝患者粪便提取液感染国产猕猴成功的报道。HEV的细胞培养虽有报道，但尚不能大量培养，方法有待进一步完善。

二、致病性与免疫性

HEV的传染源主要是潜伏期末期和急性期早期的戊型肝炎患者。主要经粪-口途径传播。其中以水型流行较为多见，主要因水源被粪便污染所致。经食物传播和日常生活接触传播也有报道。某些动物，如猪中亦发现了HEV的自然感染，但其作为传染源的意义尚不清楚。

人感染HEV后，潜伏期约10～60天，平均为40天。病毒经胃肠道进入血液，在肝内复制后释

放到血液和胆汁中，并随粪便排出体外，污染水源、食物和周围环境而发生传播。

人感染HEV后，由于病毒对肝细胞的直接损伤和免疫病理作用，引起肝细胞的炎症或坏死，可表现为临床型和亚临床型。成人感染后以临床型多见，儿童则多为亚临床型。其中临床型表现为急性戊型肝炎（包括黄疸型和无黄疸型）、重症肝炎以及胆汁淤积性肝炎。多数患者于病后6周即好转痊愈，不发展为慢性肝炎。戊型肝炎的病死率较高，一般为1%～2%，最高达12%，尤以孕妇严重，妊娠最后3个月者病死率可高达10%～20%。此外，HBsAg携带者重叠感染HEV后，病情也较重。

戊型肝炎病后有一定免疫力，可获得保护性中和抗体，但免疫力持续时间较短。

三、微生物学检查法

病毒颗粒及成分检测对HEV的感染应该进行病原学诊断，以便与甲型肝炎区别开。可用免疫电镜检测戊型肝炎患者粪便中的HEV颗粒，还可用免疫荧光法检测肝组织中HEAg。此外，应用RT-PCR法也可检测患者血清、粪便和胆汁中HEV RNA。上述检查结果阳性者表示体内有HEV感染和复制，有传染性。但这些方法操作较复杂，需特殊的设备条件，不宜作为HEV常规的实验室诊断。

HEV抗体检测目前戊型肝炎常规的实验室诊断技术是酶联免疫试验检测患者血清中抗HEV IgM和（或）IgG抗体。抗HEV IgM出现时间一般较抗HEV IgG早，但其持续时间较抗HEV IgG短，可作为急性HEV感染的诊断指标。抗HEV IgG不同于抗HAV IgG，其出现时间相对较早，但抗体滴度下降较快，在目前抗HEV IgM试剂盒尚不完善的情况下，也可用抗HEV IgG作为HEV急性感染的实验室诊断指标。

四、防治原则

本病的预防主要以切断传播途径为主的综合性预防措施，包括保证安全用水、防止水源被粪便污染、加强食品卫生管理和教育、讲究个人卫生和提高环境卫生水平。普通免疫球蛋白预防戊型肝炎无效。目前尚无有效的疫苗预防本病。

第六节　其他肝炎相关病毒

GB病毒-C（GB virus-C，GBV-C）/庚型肝炎病毒（hepatitis G virus，HGV）和TT病毒（TT virus，TTV）是最近从输血后非甲～戊型肝炎患者中发现的新病毒，最初两者被认为可能与非甲～戊型肝炎的病因有关。随着研究的深入，发现其致病性尚不能确定，而且有证据表明GBV-C/HGV和TTV感染在一定情况下可能对人体有益。基于GBV-C/HGV和TTV的上述特点及研究近况，从其分离的来源考虑，统称为新近发现的肝炎相关病毒（hepatitis-related virus）。

一、GB病毒-C/庚型肝炎病毒

1995年，美国科学家从接种GB患者血清的狷猴（tamarin）中发现了2个RNA病毒样序列，命名为GBV-A和GBV-B。用两者的重组蛋白建立ELISA技术及代表性差异分析（representational difference analysis，RDA）技术，从一名GBV抗体阳性的非甲～戊型肝炎患者中，扩增到人的GBV-A和GBV-B样的核酸序列，命名为GB病毒-C（GBV-C）。随后，美国另一组科学家也从一名输血后非甲～戊型肝炎患者中克隆到上述类似的序列，称为庚型肝炎病毒（HGV）。GBV-C和HGV的核苷酸和氨基酸序列同源性分别为85%和95%，因此认为两者是同一种病毒的不同分离株。其正式命名有待最后确定。

生物学特性　GBV-C/HGV为直径小于100nm的有包膜RNA病毒，蔗糖密度梯度为1.07～

1.09g/ml。HGV是黄病毒科中的一个新属，结构与HCV相似，基因组为单正链RNA，长约9.4kb，由编码区和非编码区两部分组成。其5′端和3′端分别为非编码区，两者间有一个完整的ORF，编码一个约2900个氨基酸的前体蛋白，经病毒和宿主细胞蛋白酶水解后，形成相应的病毒结构蛋白和非结构蛋白。GBV-C/HGV 5′ UTR富含茎环和发夹结构，可能与病毒的复制有关。此外，UTR内某些区域的核酸序列高度保守，可用来优化设计PCR引物，以提高GBV-C/HGV检测的敏感性。GBV-C/HGV的C区相对较短，据报道有相当数量的分离株甚至缺少核心区，这是GBV-C/HGV有别于黄病毒科中其他成员的特点。GBV-C/HGV的包膜E2蛋白较为保守，缺乏HCV样的高变区。

GBV-C/HGV至少有3个主要的基因型（非洲型、美国型和亚洲型），且各基因型按其命名呈一定的地理分布，但其临床意义尚不清楚。

GBV-C/HGV可感染狨猴、猬猴和黑猩猩，并可连续传代。我国有用GBV-C/HGV RNA阳性血清实验感染猕猴成功，并连续转传2代的报道。此外，GBV-C/HGV尚未见在体外细胞连续传代培养成功的报道。

致病性和免疫性 GBV-C/HGV的传染源主要是病毒感染者或携带者。灵长类动物虽可感染GBV-C/HGV，但其自然感染情况及其作为传染源的意义尚不清楚。

GBV-C/HGV主要经血传播，受血者、静脉药物依赖者、接触血液的医务人员等GBV-C/HGV感染率高。此外，还存在母婴传播方式。GBV-C/HGV多为持续感染，单独感染者不引起明显的肝损伤及相应的临床症状。由于传播途径相同，GBV-C/HGV常与HBV、HCV和HIV等联合感染。有研究报道在联合感染中，GBV-C/HGV并不加重乙型和丙型肝炎的临床症状和肝脏酶学变化。合并GBV-C/HGV感染的HCV感染者中，有些患者体内的HCV病毒血症消失，而ALT恢复正常，GBV-C/HGV感染却持续存在；合并感染GBV-C/HGV的HIV感染者中者常表现为$CD4^+$细胞计数较高，故AIDS病程进展较为缓慢。此外，目前的资料显示肝脏并不是GBV-C/HGV复制的主要部位。

人感染GBV-C/HGV后可刺激机体产生抗包膜E2蛋白的抗体。感染者中GBV-C/HGV RNA阴转的同时E2抗体开始出现，且两种标志物的含量相互呈反比关系，该抗体可能是中和抗体，可反映机体既往感染的情况。

微生物学诊断 目前诊断GBV-C/HGV感染主要用RT-PCR。但RT-PCR不能表明GBV-C/HGV的既往感染和血清学转化规律。

最近，应用CHO细胞表达的重组GBV-C/HGV包膜E2多肽抗原，建立了ELISA技术检测血清中E2抗体。因E2抗体的出现与GBV-C/HGV RNA的消失相关，因此认为E2抗体阳性标志着GBV-C/HGV感染的恢复和既往感染情况。

对GBV-C/HGV的生物学特性和致病性等问题的认识有一个不断发展的过程，随着研究的深入，越来越多的证据表明GBV-C/HGV可能对人体无害，有学者认为GBV-C/HGV是一个“旁观者”或为人体的“正常病毒群”。GBV-C/HGV感染的意义亟待进一步研究。

二、TT病毒

继发现GBV-C/HGV后，1997年Nishizawa等从一名输血后非甲～庚型肝炎患者（T.T.）血清中克隆到一个500bp长的病毒样DNA片段，命名为N22克隆，随后确定其代表的是一新病毒的部分基因。以N22克隆为起点用引物延伸法确定了病毒的近全基因序列（near full-length nucleotide sequence），并依照患者姓氏缩写命名为TT病毒（TT virus，TTV）。最近，国际病毒分类委员会（ICTV）根据“在设计病毒的新分类名称时，不能使用人名进行命名”的规则，故用Torque Teno virus代替了源于人名的TT病毒。“Torque”代表环状，“Teno”意为单股，二者表明TTV基因组单股环状DNA的性质，由此保留已被广泛应用的术语TT病毒（TTV）。研究还发现，利用TTV基因保守序列衍生的引物扩增到一些与TTV相关的新病毒株，如Torque teno mini virus（TTMV）（或称为TTV-like mini virus，TLMV）、SEN病毒等。目前ICTV将上述病毒归属于一个尚未分科的新

病毒属——*Anellovirus*属。这些病毒虽然核酸序列差异较大，但基因组结构和功能却很相似。本文仅对TTV进行简要介绍。

生物学特性　TTV是一种无包膜的单股环状负链的球形DNA病毒，直径为30～32nm，TTV基因组（图25-13）长3.6～3.9kb，由编码区和非编码区两部分组成，非编码区某些区域核苷酸序列十分保守，可能与病毒的复制及蛋白质的表达有关；利用该区域设计PCR引物可提高TTV DNA的检出率。

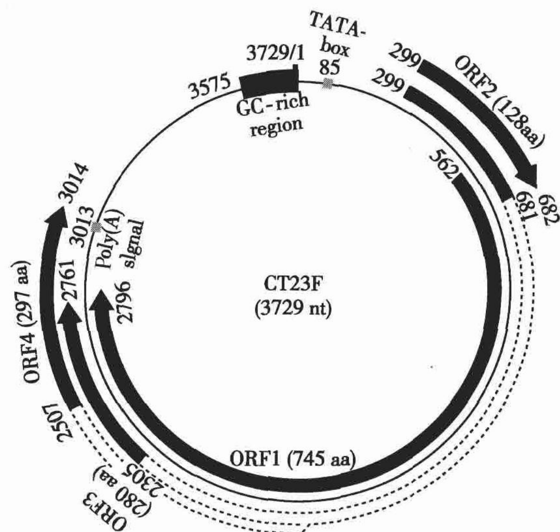


图25-13　TTV基因结构图

目前认为TTV结构区至少有4个ORF。ORF1编码的可能为病毒的衣壳蛋白，其中3个高变区可能与病毒免疫逃逸、在体内持续感染有关。有关ORF2、ORF3及ORF4编码的蛋白质功能目前尚不清楚。TTV基因组DNA呈高度的变异性。有学者根据ORF1的全核酸序列差异将TTV分为5大基因群（genetic group），至少有39种基因型。虽然TTV各基因群间核苷酸异质性大于40%，但是不同基因群的基因组基本结构却十分保守。

致病性　TTV可以经血、粪-口途径、唾液飞沫、精液和乳汁等多途径传播。一些动物中亦发现了TTV的存在，但其作为传染源的意义尚不清楚。

TTV感染呈全球性分布，人群中感染率很高。用PCR检测，欧美等国家献血员的感染率约33%～93%，亚洲、非洲和南美洲等正常献血员的感染率为80%～100%。这些差异除与当地的卫生环境条件有关外，还与PCR引物衍生的区域有一定的关系。TTV感染一般表现为无症状携带者，多持续很长时间甚至终生，至今尚未发现TTV有引起肝炎或其他疾病的能力。

TTV在人体内的复制部位尚不确切。TTV可以在黑猩猩体内传代，但未见引起明显的肝生化指标异常及肝组织细胞病变表现。

由于流行病学、临床资料及动物实验均不支持TTV的致病作用，因此有学者提出：TTV可能为人体的“正常病毒群”，在一定的条件下对人有益无害。

微生物学检查　目前，TTV的实验室诊断仅为PCR技术。由于TTV基因组存在较大的变异性，因此PCR引物的位置对其检测结果影响极大。根据高度保守的UTR序列设计引物建立了PCR，可检测到目前已知的不同基因群及基因型的TTV变异株，人群检出率高达33%～100%。PCR法的建立使人们对TTV流行病学特点及致病性有了更深入的了解和认识。

展　望

肝炎病毒是指以侵害肝脏为主并引起病毒性肝炎的一组不同种属的病毒。目前公认的有甲、乙、丙、丁、戊型肝炎病毒，分别引起甲、乙、丙、丁、戊型肝炎。其中甲型肝炎病毒和戊型肝炎病毒经消化道传播，而乙型、丙型、丁型肝炎病毒主要经血传播。

甲、乙、丙、丁、戊型肝炎病原学确立的历史反映了病毒学研究手段的进步。1973年Feinstone应用免疫电镜技术，在实验感染甲型肝炎的患者急性期粪便中首次发现了HAV颗粒。1979年Provost等用恒河猴肾（fetal rhesus monkey kidney，FRhk6）细胞首次成功分离培养出HAV。1983年Ticehurs等构建了HAV全基因组cDNA克隆。这些研究进展使得甲型肝炎在病原学、诊断技术和疫苗研究等方面取得了快速的发展。乙型肝炎病毒表面抗原（hepatitis B surface antigen，HBsAg）最早被称为称为澳大利亚抗原（Australia antigen，Aa），由Blumberg于1963年首先在澳大利亚土著

人血清中发现，该抗原能够和一个白血病患者的血清产生抗体-抗原反应。1966年Blumberg发现在一个有肝炎症状的12岁的唐氏综合征男孩的血液中检测出Aa，随后发现肝炎患者血清中Aa阳性率高于非肝炎患者。1967年，Blumberg等最终明确了这种抗原与乙型肝炎密切相关。1970年，Dane在肝炎患者血清中发现乙型肝炎病毒颗粒，即Dane颗粒（Dane' s particle）。1976年Blumberg因发现乙型肝炎病毒获诺贝尔生理学或医学奖。而丙型肝炎在20世纪90年代以前一直被称为输血后非甲非乙型肝炎（post-transfusion non A non B hepatitis，PT-NANBH），虽然人们早在1975年已经发现存在一种非甲型和乙型肝炎病毒引起的、与输血相关的病毒性肝炎，然而在当时及随后的很长时间里，一直未观察到病毒颗粒和通过血清学分析检测病毒的抗原或抗体，也无法建立有效的细胞模型。直到1989年Choo等从一例严重肝脏损害的PT-NANBH患者血清对黑猩猩血浆制备的cDNA文库进行筛选，获得了唯一一个阳性克隆（命名为“5-1-1”）。随后经过一系列实验确定了该克隆的确来自NANBH病毒基因组，将NANBH病毒命名为丙型肝炎病毒（hepatitis C virus，HCV），这是反向遗传学技术（Reverse genetic manipulation）在研究致病微生物方面的一个经典范例（即在DNA分子水平上对RNA病毒进行操作，进而研究病毒的遗传规律和生物学性状）。1977年Rizzetto等首次在慢性乙型肝炎患者的肝细胞核中检测出一种新的抗原，命名为δ抗原。用含有该抗原的肝组织提取液感染黑猩猩，证明其具有传染性，故称为δ因子。1984年δ因子正式命名为丁型肝炎病毒(hepatitis D virus，HDV)，其所致的疾病称为丁型肝炎（hepatitis D，HD）。世界上首次有记载的戊型肝炎流行发生于1955年12月至1956年1月印度新德里，因自来水被粪便污染而引起戊型肝炎水型流行，约近10万人发病，由于临床症状和传播途径与甲型肝炎相似，当时被误认为是甲型肝炎。20世纪70年代初HAV的检测方法建立后，研究者对当时新德里患者的血清重新进行了回顾性调查，结果未发现血清中抗HAV IgM或IgG效价升高，故确定为肠道传播的非甲非乙型肝炎。1986年9月～1988年4月，我国新疆南部地区发生迄今世界上最大规模的一次肠道传播的非甲非乙型肝炎流行，共计发病119 280例，死亡707例。1986年前苏联Balayan等用免疫电镜技术从一名志愿者急性期粪便标本中发现了病毒颗粒。1989年美国Reyes等应用分子克隆技术，获得了病毒的cDNA克隆，并正式命名为戊型肝炎病毒。

目前，有关肝炎病毒的研究，如肝炎病毒的分子结构、病毒全基因组序列、遗传变异、分类学、分子致病机制，HBV以及HCV与原发性肝癌的关系、肝炎病毒的实验室诊断技术、甲型肝炎病毒预防性疫苗、乙型肝炎病毒预防性及治疗性疫苗的研制和应用等方面均取得了重大进展。但是，在肝炎病毒与宿主细胞的相互关系及其致病致癌机制、肝炎病毒体外组织细胞培养、乙型肝炎和丙型肝炎基因变异、丙型和戊型肝炎病毒疫苗研制、抗肝炎病毒药物研制及合理临床治疗方案的制定，以及寻找原因不明肝炎的病原学等方面还需进行深入研究。随着分子生物学理论和技术的发展、人类基因组计划的完成、后基因组计划的启动，以及一些新技术方法，如生物芯片、干细胞研究和生物信息学的进展和应用，将有可能对肝炎病毒乃至整个病毒学的发展带来重大的突破，这也是当今病毒学研究面临的巨大挑战。

（林　旭　彭宜红）

第二十六章 虫媒病毒

虫媒病毒（arbovirus）是指通过吸血的节肢动物叮咬易感的脊椎动物而传播疾病的病毒。病毒能在节肢动物体内增殖，并可经卵传代，因此节肢动物既是病毒的传播媒介，又是储存宿主。目前已证实，能作为虫媒病毒传播媒介的节肢动物有580多种，主要有蚊虫、蜱类、白蛉和蠓等。带毒的节肢动物通过叮咬人或自然界的脊椎动物而传播疾病，并维持病毒在自然界的循环，因此，大多数虫媒病毒病是自然疫源性疾病，也是人畜共患病。由于节肢动物的分布、消长和活动与自然环境和季节密切相关，所以虫媒病毒病具有明显的地方性和季节性。

虫媒病毒是一个生态学名称，是根据其传播方式归纳在一起的一大类病毒，在病毒学分类学上虫媒病毒隶属于不同病毒科的不同病毒属。目前，在国际虫媒中心登记的虫媒病毒包括6个病毒科的至少557种病毒，其中130余种可对人畜致病。20世纪80年代以来，在我国已发现的虫媒病毒有14种，其中引起疾病流行的主要有乙型脑炎病毒、森林脑炎病毒、登革病毒和克里米亚-刚果出血热病毒。此外，我国新疆、云南、贵州和海南等地还存在辛德毕斯病毒、东方马脑炎病毒、西方马脑炎病毒、罗斯河病毒和基孔肯雅病毒，以及新近发现的版纳病毒、Kadipiro病毒、辽宁病毒和Colti病毒等。重要的虫媒病毒及其所致疾病见表26-1。

虫媒病毒感染的临床表现呈多样性，可表现为脑炎或脑脊髓炎、发热、皮疹、关节痛、出血热、休克等，严重者可引起死亡。

Arboviruses（arthropod-borne-viruses）represent ecologic groupings of viruses with complex transmission cycles involving arthropods. These viruses have diverse physical and chemical properties and are classified in several virus families.

The arboviruses are transmitted by bloodsucking arthropods from one vertebrate host to another. The vector acquires a lifelong infection through the ingestion of blood from a viremic vertebrate. The viruses multiply in the tissues of the arthropod without evidence of disease or damage. Some arboviruses are maintained in nature by transovarian transmission in arthropods.

There are more than 557 arboviruses, of which about 130 are known human pathogens. The arbovirus diseases are widely distributed throughout the world, depending on the availability of appropriate hosts and vectors. In China the most important arboviral infections are Japanese B encephalitis, dengue and Russian spring-summer encephalitis that are classified as the *Flavivirus* genus in the *Flaviviridae* family. The Flaviviruses have a positive-sense RNA genome and an enveloped. Most of the Flaviviruses are serologically related, and antibodies to one virus may neutralize another virus. The viruses multiply in continuous polyploid tissue cultures of mammalian cells , such as grivet monkey kidney（Vero）and *Aedes albopictus* mosquito cells.

Japanese B encephalitis virus causes epidemic of encephalitis, affecting children, particularly in South-East Asia, Indonesia, China, Korea, and Japan. The principal vectors are *C. tritaeniorhynchus* mosquitoes. Pigs are important vertebrate reservoirs. Clinical presentations of Japaness B encephalitis virus infection include the sudden onset of fever, nausea, headache, vomiting and dizziness,

followed by signs of encephalitis and central nervous system dysfunction, significant neurological sequelae with physical and/or intellectual handicap are seen in some of the survivors. Human and animal infections due to Japanese B encephalitis virus can be prevented by immunization with vaccines.

Dengue viruses including four distinct serogroups (DENV1 ~ 4), are transmitted by the bite of *Aedes* mosquitoes. Dengue viruses cause dengue fever, Dengue hemorrhagic fever/ dengue shock syndrome (DHF/DSS), which are endemic throughout the tropics and subtropics. Dengue is an acute febrile disease with sudden onset of fever, headache, chills, severe pain in bones, joints and muscles, and rashes. Dengue hemorrhagic fever is a less common manifestation of dengue, and is characterized abdominal pain, hemorrhagic manifestations, and circulatory collapse. Currently, no specific vaccine is available for use against dengue infection.

Laboratory diagnosis of arboviruses infections includes isolation of virus or specific RNA detection from blood, cerebrospinal fluid, and serologic test.

表 26-1 重要的虫媒病毒及其所致疾病

病毒科、属	病毒种	传播媒介	储存宿主	疾病	主要分布
黄病毒科黄病毒属	登革病毒	蚊	猴	登革热或登革出血热	热带、亚热带
	乙型脑炎病毒	蚊	猪、鸟类	乙型脑炎	亚洲
	黄热病病毒	蚊	猴	黄热病	中美，南美，非洲
	Kyasanur森林热毒	蜱	猴	科萨努尔森林热	印度
	森林脑炎病毒	蜱	鸟类、啮齿动物	蜱传脑炎	俄国、中国
	墨累西谷脑炎病毒	蚊	鸟类	墨累西谷脑炎	澳大利亚，新几内亚
	西尼罗病毒	蚊	鸟类	西尼罗热	非洲，欧洲、中亚、北美
披膜病毒科甲病毒属	东方马脑炎病毒	蚊	马、鸟类	东方马脑炎	北美、南美、加勒比地区
	西方马脑炎病毒	蚊	马、鸟类	西方马脑炎	北美、南美
	圣路易脑炎病毒	蚊	鸟类	圣路易脑炎	美国，加勒比地区
	委内瑞拉马脑炎病毒	蚊	马、驴	委内瑞拉马脑炎	美洲
	辛德毕斯病毒	蚊	鸟类	发热、皮疹、关节炎	非洲、澳大利亚、亚洲
	基孔肯雅病毒	蚊	人、猴	发热、关节炎	非洲、亚洲
布尼亚病毒科内罗病毒属	克里米亚－刚果出血热病毒	蜱	啮齿动物、家畜	克里米亚－刚果出血热	非洲、中亚、中国新疆

第一节 流行性乙型脑炎病毒

流行性乙型脑炎病毒（Encephalitis B virus）简称乙脑病毒。1935 年日本学者首先从脑炎死亡患者脑组织中分离到该病毒，故国际上称为日本脑炎病毒（Japanese encephalitis virus）。乙脑病毒经蚊虫叮咬传播，引起流行性乙型脑炎（简称乙脑）。乙脑是严重威胁人畜健康的急性传染

病，病毒主要侵犯中枢神经系统，临床表现轻重不一，严重者死亡率高，幸存者常留下神经系统后遗症。

一、生物学性状

流行性乙型脑炎病毒为黄病毒科（Flaviviridae）黄病毒属（*Flavivirus*）成员，病毒的结构特点、基因组构成、蛋白合成及加工等与同属病毒的其他成员如黄热病病毒、登革病毒和森林脑炎病毒等高度相似。病毒颗粒呈球形，直径30～40nm，有包膜，核衣壳呈二十面体立体对称。成熟的病毒颗粒含包膜蛋白E（E蛋白）和膜蛋白M（M蛋白）以及衣壳蛋白C（C蛋白）(图26-1)。病毒核酸为单正链RNA，基因组全长10976bp，5′末端有I型帽子结构，3′末端无多聚腺苷酸（polyA）尾，只含一个长的开放读码框（ORF），其基因排列次序为：5′-C-PrM-E-NS1-NS2a-NS2b-NS3-NS4a-NS4b-NS5-3′（图26-2）。在病毒复制过程中，ORF先转译一个由3432个氨基酸组成的多聚蛋白前体，然后在宿主细胞的弗林蛋白酶、信号肽酶、分泌酶和病毒编码的蛋白酶的作用下加工裂解成3种结构蛋白和至少7种非结构蛋白。

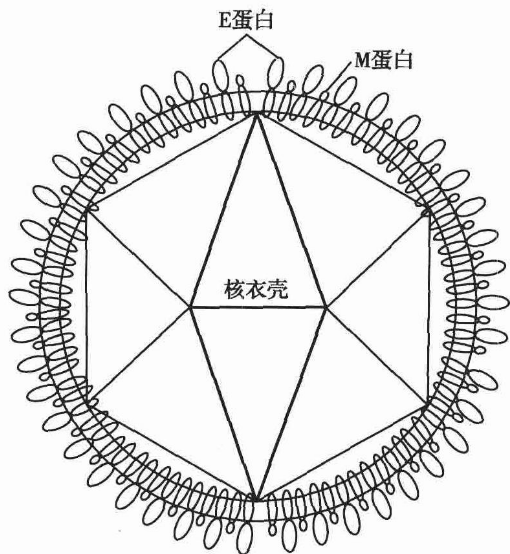


图26-1 乙脑病毒结构示意图

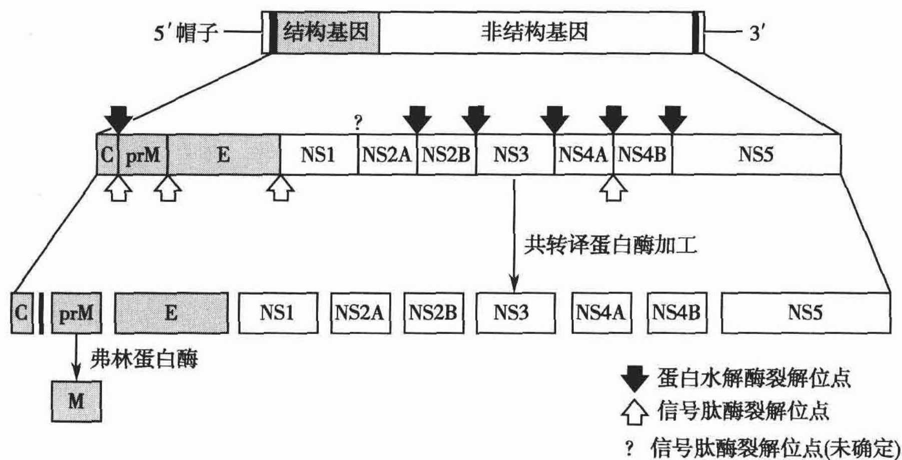


图26-2 乙脑病毒基因结构图

C蛋白为包裹病毒基因组的衣壳蛋白，相对分子质量约13×10^3，在病毒的复制、转录调节及装配的过程中起重要作用。prM蛋白是M蛋白的前体蛋白，存在于宿主细胞内的不成熟的病毒粒子中。在病毒成熟的过程中，不成熟的病毒粒子被转移至高尔基体，preM被蛋白酶切割为M蛋白。M蛋白分子量为$7 \sim 8 \times 10^3$，具有高度的疏水性，可插入毒粒的脂质双层中。M蛋白又是与核衣壳紧密相连的蛋白质，在病毒包装过程中，M蛋白的羧基端可与E蛋白和衣壳蛋白特异地结合，因此，M蛋白也参与病毒的成熟过程；E蛋白是镶嵌在病毒包膜上的糖基化蛋白，含有C-跨膜区，相对分子质量为$51 \sim 59 \times 10^3$，是病毒表面的重要成分，具有与细胞表面受体结合、介导膜融合等活性，与病毒的吸附、穿入、致病等作用密切相关。E蛋白具有凝集红细胞的能力，能凝集雏鸡、鸽、鹅、绵羊等多种动物红细胞。E蛋白含中和抗原表位、黄病毒属特异性、亚组特异性和型特异性抗原表位，与其他黄病毒成员如圣路易脑炎病毒（St.Louis encephalitis virus）和西尼罗病毒（West

Nile Virus）有交叉免疫反应。

非结构蛋白包括NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b和NS5等，与病毒的复制、生物合成及病毒颗粒的装配与释放密切相关。NS1是糖基化蛋白，存在于感染细胞表面，并可分泌到细胞外，有很强的抗原性，其诱生的抗体虽然没有中和病毒的作用，但具有免疫保护性。NS3是一种多功能的蛋白质，具有蛋白酶、RNA三磷酸酶和RNA解旋酶的功能，并含有T细胞表位。NS5具有RNA聚合酶和甲基转移酶活性。NS3和NS5在病毒复制过程中均具重要作用，在复制过程中，基因组3'端的发夹状结构与NS3及NS5形成的复合体结合，起始病毒RNA的复制。

乙脑病毒抗原性稳定，较少变异，不同地区不同时期分离的病毒株之间无明显差异，迄今只发现一种血清型，故疫苗预防效果良好。主要抗原成分为E蛋白，可诱导机体产生保护性中和抗体和血凝抑制抗体。不完全裂解的PreM蛋白、NS1和NS5蛋白亦可诱导机体产生保护性免疫反应。M蛋白和C蛋白也具有抗原性，但在病毒的致病和免疫上不起重要作用。

乙脑病毒对多种细胞敏感，能在白纹伊蚊C6/36细胞、Vero细胞及BHK21细胞等传代细胞或猴肾、地鼠肾、猪肾、鸡胚纤维母细胞等原代细胞中增殖，并引起明显的细胞病变。其中C6/36细胞是乙脑病毒最敏感的细胞，广泛用于乙脑病毒的分离培养。小白鼠和金黄地鼠对乙脑病毒易感，脑内接种病毒后，可引起发病和死亡。乳鼠是最易感的动物，脑内接种3～5天后发病，表现为典型的神经系统症状，如兴奋性增高、肢体痉挛和尾强直等，最后因麻痹而死亡。感染乳鼠有病毒血症，脑组织中含有大量的病毒。病毒在培养细胞和鼠脑内连续传代，可使毒力下降，我国研制成功的SA14-14-2减毒活疫苗株就是将强毒株在体外连续传代后选育而来的。

乙脑病毒对酸、乙醚和氯仿等脂溶剂敏感，不耐热，56℃ 30分钟、100℃ 2分钟均可使之灭活。对化学消毒剂也较敏感，多种消毒剂可使之灭活。

二、流行病学特征

传染源　乙脑病毒的传染源是带毒的蚊子和猪、牛、马、驴、羊等家畜和某些鸟类。动物感染后不出现明显的症状和体征，但有持续数天的病毒血症，成为传染源。在我国，幼猪是最重要的传染源和中间宿主，因为猪的生活周期短，新生的幼猪缺乏免疫力，具有高的感染率和高滴度的病毒血症，经过流行季节的幼猪，感染率可达100%。通常猪的感染高峰期比人群的发病高峰期早3周左右，因此可通过检查猪的感染率预测当年乙脑的流行趋势。人感染乙脑病毒后仅发生短暂的病毒血症，且血中病毒滴度不高，所以或者不是主要的传染源。在日本和我国台湾省，曾多次从蝙蝠中分离到乙脑病毒，蝙蝠经蚊子叮咬后可出现长达6天的病毒血症，并可带毒越冬，因此认为蝙蝠亦可作为乙脑病毒的传染源和长期宿主。

传播媒介　乙脑病毒的主要传播媒介是蚊子。受感染的蚊子可带毒越冬并可经卵传代，因此蚊子不仅是传播媒介又是重要的储存宿主。迄今，已从库蚊、按蚊、伊蚊、曼蚊和阿蚊等5属30多种蚊子中分离到乙脑病毒。主要带毒蚊种有三带喙库蚊、致乏库蚊、白纹伊蚊、二带喙库蚊、雪背库蚊、中华按蚊等。我国有20多种蚊虫可传播乙脑病毒，其中三带喙库蚊为最重要的带毒蚊种，是乙脑病毒的主要传播媒介。除蚊子外，在蠛蠓、尖蠓及库蠓中也分离到乙脑病毒，因此，这些昆虫也可能是乙脑病毒的传播媒介。

流行环节　蚊子吸血后，病毒先在蚊子的中肠上皮细胞中增殖，然后进入血腔并移行至唾液腺，经叮咬猪、牛、羊、马等家畜或禽类而传播。动物感染病毒后，一般只有短暂的病毒血症，不出现明显的症状及体征，但在病毒血症期间的动物则可成为传染源。病毒通过蚊子作为传播媒介而在蚊—动物—蚊中不断循环，其间带毒蚊子若叮咬人类，则可引起人类感染（图26-3）。

流行特征　乙脑主要在亚洲的热带和亚热带国家和地区流行，流行的国家主要有中国，日本，韩国，印尼，泰国，越南，缅甸，印度等。前苏联远东海滨地区及太平洋的一些岛屿也有本病流行。据WHO统计，近年亚洲每年的乙脑病例约16000例，死亡约5000例。我国是乙脑的主要流行

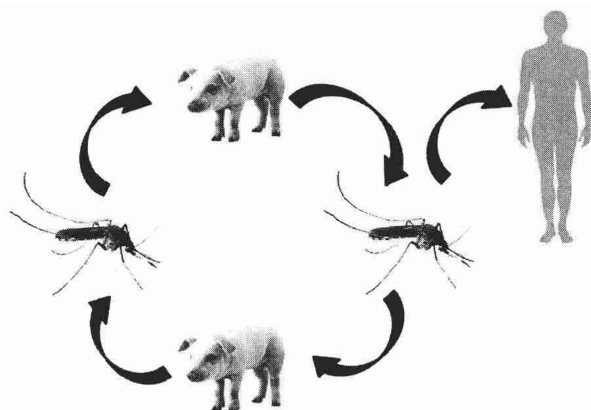


图26-3 乙型脑炎病毒传播环节示意图

区，除青海、新疆及西藏外均有乙脑流行。随着疫苗的广泛接种以及社会的发展，乙脑发病率已逐年下降，在中国、韩国等地区，乙脑已被有效控制，日本已基本消灭了乙脑。但是近年来出现了一些新的乙脑流行区，澳大利亚本土和美国的关岛（Saipan岛）地区也首次出现乙脑病例，提示乙脑的流行区域不断扩大。

乙脑的流行与媒介蚊虫的密度有关。在热带地区，蚊虫一年四季均可繁殖，故乙脑的流行没有明显的季节性，全年均可发生流行或散发流行。在亚热带和温带地区则有明显的季节性，流行季节与蚊子密度的高峰期一致，以夏、秋季流行为主，一般在4～5月份开始，9～10月份结束，80%～90%的病例出现在7、8、9三个月。易感人群主要是10岁以下的儿童，尤以2～9岁年龄组发病率较高。近年来由于在儿童中普遍接种疫苗，故成年人和老年人的发病率相对增高。

三、致病性与免疫性

病毒经带毒蚊子叮咬进入人体后，先在皮肤毛细血管内皮细胞和局部淋巴结等处增殖，随后经毛细血管和淋巴管进入血流，引起第一次病毒血症。病毒随血流播散到肝、脾等处的单核巨噬细胞中，继续大量增殖后，再次入血，引起第二次病毒血症，出现发热、寒战、全身不适等症状。绝大多数感染者病情不再继续发展，成为顿挫感染（abortive infection）。少数免疫力不强的患者，病毒可突破血-脑脊液屏障侵犯中枢神经系统，在脑组织神经细胞内增殖，引起脑实质和脑膜炎症，出现严重的中枢神经系统症状，表现为高热、头痛、呕吐、惊厥、抽搐、脑膜刺激征等，并可进一步发展为昏迷、中枢性呼吸衰竭或脑疝，病死率可高达10%左右。约5%～20%的幸存者可留下不同程度的后遗症，表现为痴呆、失语、瘫痪等。

乙脑病毒的致病机制目前尚未完全清楚，研究表明，免疫病理反应可能起重要作用。在感染早期，病毒可诱导单核巨噬细胞分泌某些细胞因子，如MDF（macrophage derived neutrophil chemotactic factor）、IL6等，这些细胞因子可增加血-脑脊液屏障的通透性，使病毒易于侵入中枢神经系统感染神经细胞。病毒感染还可使脑组织巨噬细胞、神经胶质细胞和T淋巴细胞释放多种炎性细胞因子，如TNF-α、IL-8、IFN-a和趋化因子RANTES等，从而引起炎症反应和细胞损伤。急性期或者循环免疫复合物检出率高，补体含量降低，提示免疫复合物可能参与病毒的致病过程。此外，病毒感染诱导的细胞凋亡也可能在病毒的致病过程中起一定的作用。

乙脑病毒感染的免疫以体液免疫为主，但完整的血-脑脊液屏障和细胞免疫也起重要作用。感染后一周左右即产生IgM中和抗体，感染后2周IgM抗体达高峰，并出现IgG中和抗体及血凝抑制抗体。IgG抗体维持时间长，可达数年之久。感染后3～4周可出现补体结合抗体，但这类抗体无免疫保护作用，半年后逐渐消失。乙脑病后免疫力稳定而持久，隐性感染也可获得牢固的免疫力。

四、微生物学检查法

病毒的分离　可用细胞培养法或乳鼠脑内接种法分离培养乙脑病毒。细胞培养法常用的传代细胞有C6/36白纹伊蚊细胞、BHK-21细胞或Vero细胞等，将发病初期患者的脑脊液或尸检脑组织悬液接种于上述细胞后，可出现细胞病变，病毒的鉴定可用红细胞吸附试验或单克隆抗体免疫荧光试验等。乳鼠脑内接种法分离病毒的敏感性低于细胞分离培养法。

病毒抗原检测　采用乙脑病毒单克隆抗体免疫荧光或ELISA技术，可检测发病初期患者血液

或脑脊液中的乙脑病毒抗原，阳性结果有早期诊断意义。

血清学试验　目前常用的血清学试验主要有ELISA、 血凝抑制试验、胶乳凝集试验等和中和试验等。

用ELISA法检测乙脑病毒特异性IgG抗体，通常需检测急性期和恢复期双份血清，当恢复期血清抗体效价比急性期升高4倍或4倍以上时，才有诊断价值。 乙脑病毒特异性IgM抗体一般在感染后 4天开始出现，2～3周达高峰，采用IgM抗体捕获的ELISA法检测或者血清或脑脊液中的特异性IgM抗体，阳性率可达90%以上，因此可用于早期快速诊断。血凝抑制抗体出现较早，一般于病后第5 天出现，2周时达高峰，维持时间达1年以上，因此可用于临床诊断和流行病学调查。血凝抑制抗体与某些黄病毒成员有弱的交叉抗原性，因此血凝抑制试验特异性较差，有时会出现假阳性结果。中和试验特异性及敏感性均较高，但因中和抗体在发病的第2周出现，维持时间可长达2～10 年，故不用于临床诊断，一般仅用于流行病学调查或新分离病毒的鉴定。

病毒核酸检测　RT-PCR技术检测乙脑病毒特异性核酸片段是一种特异而敏感的诊断方法，近年来已广泛用于乙脑的早期快速诊断。

五、防治原则

目前对乙型脑炎尚无特效的治疗方法，所以有效的预防尤为重要。预防的关键措施包括防蚊灭蚊、疫苗接种和动物宿主的管理。

目前国际上使用的乙脑疫苗有灭活疫苗和减毒活疫苗两类。灭活疫苗有鼠脑来源的灭活疫苗和细胞培养的灭活疫苗两种。鼠脑灭活疫苗已在日本、朝鲜等国家使用多年，免疫效果佳，安全性好。我国自1968年以来使用地鼠肾细胞培养的灭活疫苗进行计划免疫，完成全程免疫后可获得持久的免疫力。此外，我国在减毒活疫苗的研究方面也已取得了显著成绩，1988年研制成功并生产了地鼠肾细胞减毒活疫苗 （SA-14-14-2），可诱导良好的体液免疫和细胞免疫反应，已在国内广泛应用。

猪是乙脑病毒的主要传染源和中间宿主，在我国农村地区，人和猪接触较多，因此必须做好猪的管理工作，有条件时可给幼猪接种疫苗，减少幼猪感染乙脑病毒，从而降低乙脑的发病率。

第二节　登 革 病 毒

登革病毒（dengue virus）是登革热（dengue fever，DF）、登革出血热/登革休克综合征（dengue hemorrhagic fever/dengue shock syndrome， DHF /DSS）的病原体。埃及伊蚊和白纹伊蚊是登革病毒主要的传播媒介，人类和灵长类动物是登革病毒的自然宿主。登革热广泛存在于全球热带、亚热带的100多个国家和地区,其中以东南亚和西太平洋地区的流行最为严重。在我国,登革热主要在台湾、广东、海南、广西和福建等地流行。近年来，由于全球气候变暖和国际人口大量流动等原因，蚊媒和登革病毒分布区域不断扩大，加剧了登革病毒在全球的传播和流行。目前，登革热已成为世界上分布最广、发病最多的虫媒病毒病。

一、 生物学性状

形态与结构　在病毒分类学上，登革病毒属于黄病毒科、黄病毒属，其形态和结构与乙脑病毒相似，为一种球形颗粒，直径45～55nm。核衣壳为20面体立体对称，具有双层脂质包膜，包膜上镶嵌着包膜糖蛋白E和小分子非糖基化膜蛋白M （M蛋白）。根据抗原性不同，可将登革病毒分为四个血清型（DENV1～DENV4），各型病毒间有交叉抗原性。

基因结构与功能　登革病毒的基因组为单正股RNA，基因组全长约11000个核苷酸。基因组RNA分子的5′端有一个Ⅰ型帽子结构,3′端不含多聚腺苷酸（poly A）尾。基因组排列顺序为:

5′-C-PreM-E-NS1-NS2a-NS2b-NS3-NS4a-NS4b-NS5-3′。在病毒复制过程中，基因组先合成一个分子量约为380kDa的多聚蛋白前体，然后再加工切割成为单个成熟的结构蛋白和非结构蛋白。

结构蛋白是组成病毒颗粒的主要成分，包括C蛋白、M蛋白和E蛋白。C蛋白为病毒的衣壳蛋白，是翻译过程中首先合成的病毒多肽，为一种非糖基化蛋白。C蛋白中赖氨酸与精氨酸残基的含量约为25%，这些碱性氨基酸在病毒装配过程中起重要作用，能与基因组RNA相互作用，包裹病毒RNA，形成核衣壳。C蛋白上具有特异的抗原表位，但一般不诱导中和性抗体的产生。

M蛋白是一种小分子非糖基化膜蛋白，位于包膜内侧，分子量约为8kDa，由75个氨基酸组成。M蛋白由PrM蛋白裂解而来，PreM蛋白相对分子质量约为22×10^3，含165～166个氨基酸，存在于登革病毒感染细胞内。在多聚蛋白前体分子加工的晚期，PrM在两个碱性氨基酸处裂解成为成熟的M蛋白。PrM裂解为M蛋白的过程导致了病毒表面结构的重新构建，结果不仅促进了病毒从细胞中释放，而且增加了病毒的感染性。

E蛋白是病毒主要的包膜糖蛋白，在病毒的致病和免疫过程中起十分重要的作用。E蛋白能与易感细胞表面的特异性受体结合，从而影响病毒的细胞嗜性。其第98～111位氨基酸有一个与融合相关的结构域，因此，E蛋白与病毒的吸附、穿入和细胞融合有关；E蛋白分子上含有4～5类抗原表位，即型特异性、亚群特异性、群特异性、黄病毒亚组特异性、黄病毒组特异性抗原表位，是登革病毒分型的依据；E蛋白还具有中和性抗原表位，能诱导机体产生中和抗体；E蛋白具有血凝素活性，能凝集鹅或鸽红细胞；此外，E蛋白可能与抗体依赖的感染增强作用（antibody-dependent enhancement，ADE）有关，因此，E蛋白可能还具有ADE表位。

非结构蛋白至少有7种，包括NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b、NS5。非结构蛋白存在于病毒感染的细胞中，是登革病毒的酶或调节蛋白，与病毒的复制、蛋白加工及病毒装配密切相关。

NS1蛋白是登革病毒非结构蛋白中唯一的糖基化蛋白，具有登革病毒群和型的特异性。NS1蛋白存在于感染细胞的表面和感染的鼠脑组织中。由于感染细胞表面存在NS1蛋白，因而使之成为免疫细胞攻击和裂解的靶细胞。NS1诱导产生的抗体不是中和抗体，无中和病毒的作用，但是研究发现，应用登革病毒NS1主动免疫或用抗NS1单克隆抗体被动免疫，均可保护小鼠或猴子免受致死剂量登革病毒的攻击，证明在无登革病毒中和抗体存在的情况下，NS1也能诱导保护性免疫。由于NS1抗体不与病毒颗粒结合，因此不引起抗体依赖的感染增强作用，因此，NS1蛋白是一种颇有前途的保护性蛋白，可作为登革病毒新型疫苗研制的候选蛋白。

NS2蛋白有NS2a和NS2b两种，均为疏水性蛋白质。有人认为，NS2a是一种顺式作用的蛋白酶，以自身催化方式将其与NS1裂解开来。NS2b的作用是协同NS3对NS2a/NS2b、NS2b/NS3与NS4b/NS5的蛋白酶裂解起作用。

NS3蛋白是一种亲水性蛋白质，具有蛋白酶、RNA解旋酶和RNA聚合酶活性，在病毒的复制和成熟过程中起作用；NS4a与NS4b蛋白的功能目前尚未清楚；NS5蛋白具有RNA聚合酶和甲基转移酶的活性，可能参与RNA帽的形成。

培养特性　乳鼠是对登革病毒最敏感的实验动物，可用脑内接种分离培养病毒。成鼠对登革病毒不敏感，但DENV-2经鼠脑传代成为适应株后，可使三周龄小鼠发病。猩猩、猕猴和长臂猿等灵长类动物对登革病毒易感，并可诱导特异性免疫反应，可以作为疫苗研究的动物模型。

登革病毒可在白纹伊蚊C6/36细胞、巨蚊TRA-284细胞、假鳞斑伊蚊AP-61、Hela、KB等多种传代细胞中增殖，并产生明显的细胞病变，其中白纹伊蚊C6/36细胞是最敏感、最常用的细胞。登革病毒能在BHK21地鼠肾细胞、LLC-MK2猴肾细胞及Vero细胞上产生蚀斑。登革病毒亦可在人单核细胞以及人血管内皮细胞中增殖，但不引起明显的细胞病变。此外，白纹伊蚊、埃及伊蚊和巨蚊经胸腔接种登革病毒后，可产生高滴度的病毒。

二、流行病学特征

传染源　在自然界，人和灵长类动物是登革病毒的主要储存宿主。在热带和亚热带丛林地区，猴类和猩猩等灵长类动物对登革病毒易感，是丛林型登革热的主要传染源。动物感染后不出现明显的症状及体征，但有病毒血症，蚊子通过叮咬带毒动物而形成自然界中的原始循环，人类若进入疫源地，可被带毒蚊子叮咬而感染。在城市和乡村地区，患者和隐性感染者是主要传染源，感染者在发病前24小时到发病后5天内出现病毒血症，血液中含有大量的病毒，在此期间通过蚊虫叮咬而传播，形成人—蚊—人循环。

传播媒介　登革病毒的主要传播媒介是埃及伊蚊和白纹伊蚊。在东南亚和我国的台湾省、海南省、广西北部湾沿海地区及广东省雷州半岛，埃及伊蚊是主要传播媒介；在太平洋岛屿和我国的广东省及其他江南地区，主要传播媒介则是白纹伊蚊。在这些蚊子中，只有雌蚊才吸血。蚊子吸血感染后，病毒在唾液腺中增殖，经8～10天的潜伏期，病毒广泛分布于蚊子的中肠、前肠、唾液腺及神经系统等部位，当蚊子再次吸血时，病毒随唾液进入易感者体内而传播疾病。蚊子可以多次吸血，因而感染后可以传播多人。蚊子感染后可终身带毒，并可经卵传代，因此它们不仅是登革病毒的传播媒介，也是储存宿主。此外，波利尼西亚伊蚊、鳞斑伊蚊、非洲伊蚊和白星伊蚊等伊蚊蚊种对登革病毒的传播亦有作用。

流行特征　登革病毒广泛分布于热带和亚热带有蚊虫媒介存在的地方，有时可以侵入温带地区。主要流行于东南亚、太平洋岛屿、中南美洲和非洲等100多个国家和地区，大部分地区同时存在登革病毒3～4个血清型的流行。东南亚是世界上最重要的登革病毒疫源地。我国南方在地区20世纪20～40年代曾发生过登革热流行，但此后数十年一直未见登革热疫情。1978年登革热又在我国重新出现，并在广东、海南、福建、台湾、广西及浙江等地频频发生流行或暴发流行。流行季节主要在5～11月，但因地区不同而有差别。人群对登革病毒普遍易感，但在地方性流行区，儿童发病率较高，绝大多数DSS/DHF病例发生于儿童。

三、致病性与免疫性

登革病毒经蚊虫叮咬进入人体后，先在毛细血管内皮细胞和单核细胞系统中增殖，然后经血流播散，引起疾病。潜伏期约4～8天。登革病毒感染可表现为两种不同的临床类型：登革热（DF）和登革出血热/登革休克综合征（DHF/DSS），前者为自限性疾病，病情较轻，临床上表现为发热、头痛、全身肌肉和关节酸痛、淋巴结肿大及皮疹等典型登革热的症状和体征。后者病情较重，以毛细血管内皮细胞损伤、渗透性增加和广泛出血为主要病理特征，发病初期有典型登革热的临床表现，随后病情迅速发展，出现严重出血，表现为皮肤大片紫癜及瘀斑、消化道出血等，并进一步发展为出血性休克，死亡率高。

DSS/DHF的致病机制至今尚未完全清楚。目前存在三种假说：

1. 二次感染或“抗体依赖的增强作用”（ADE）假说　该学说认为，初次感染登革病毒后机体可产生非中和性或亚中和浓度的IgG抗体，当再次感染同型或异型登革病毒时，病毒与这些抗体形成免疫复合物，通过单核吞噬细胞表面的Fc受体，与单核吞噬细胞结合，从而增强了病毒对细胞的感染作用。ADE作用的结果造成大量单核细胞受感染。被感染的单核细胞一方面可将病毒带到全身的网状内皮系统及其他易感细胞，使感染扩散，另一方面，机体的免疫系统在清除被感染的单核细胞过程中，释放一些生物活性物质，导致血管内皮细胞损伤、血管通透性增加、出血和休克等病理过程。目前，这一学说获得了许多流行病学和实验室研究结果的支持。

2. 免疫病理反应　登革病毒感染者体内异常的T细胞免疫反应和体内异常的细胞因子水平可能参与了DHF/DSS的发病。病毒感染可使T淋巴细胞异常激活，激活的T细胞可通过过度表达IFN-γ，IL-2和TNF-α等炎性细胞因子，导致登革病毒感染的单核细胞和其他靶细胞损伤。分泌的

IFN-γ可通过增加单核细胞HLA1类和2类抗原的表达，促进$CD4^+$和$CD8^+$ T细胞通过HLA1类和HLA2类限制的方式溶解感染的单核细胞，同时释放大量的生物活性物质，如IL-2、TNF-α、白细胞趋化因子、组胺、C3a、C3b等，导致血管内皮细胞损伤、血管通透性增高、血浆渗出、出血和休克。此外，大量登革病毒抗原与抗体在血循环中形成的免疫复合物，可激活补体系统而引起血管通透性增高，与出血和休克的发生亦有关系。

3. 病毒毒力变异假说　该假说认为，所以有DF和DHF/DSS这两种轻重不同的临床表现，是由于病毒株的毒力不同所致。有人认为，自然界可能存在毒力不同的登革病毒株，毒力强的毒株更能激活体内单核-巨噬细胞系统，引起更强烈的免疫反应，从而更易产生DHF/DSS的临床表现。

四、微生物学检查法

1. 病毒的分离培养　在发病的第1～3天，患者出现病毒血症，血中病毒滴度较高，故可采取早期患者血清，用白纹伊蚊C6/36细胞培养法、乳鼠脑内接种法、伊蚊胸腔接种法分离培养登革病毒，其中C6/36细胞培养法是目前最常用的方法。用登革病毒型特异性单克隆抗体可对登革病毒进行鉴定和分型。

2. 血清学检查　应用抗体捕获ELISA法或免疫层析法检测登革热患者血清中特异性IgM抗体，是最常用登革热的早期快速诊断技术。用ELISA法或免疫层析法检测血清中特异性IgG抗体也广泛用于登革病毒的临床登革病毒感染的诊断。

3. 登革病毒NS1抗原检测　登革病毒NS1抗原在各型登革病毒间呈高度保守性，在登革病毒感染早期，在感染细胞的胞浆膜中尚不能检出E蛋白和prM蛋白时，NS1即可大量表达在感染细胞表面。在感染者的血循环中也存在高滴度NS1抗原，在发病1～9天内可在血清中检出，因此，用ELISA法检测患者血清中NS1抗原可对登革热进行早期快速诊断。

4. 病毒核酸检测　应用反转录多聚酶链反应（RT-PCR）技术检测登革病毒核酸，可用于病毒的快速诊断及分型。

五、防治原则

目前登革病毒疫苗尚未研制成功，也缺乏对登革热的特效治疗方法。防蚊灭蚊是预防登革热的主要手段。登革病毒的减毒活疫苗、灭活全病毒疫苗及基因工程疫苗正在研制中。

第三节　森林脑炎病毒

森林脑炎病毒（Forest encephalitis virus）又称为蜱传脑炎病毒（Tick-borne encephalitis virus），森林中的啮齿类动物为储存宿主，蜱为传播媒介，引起以中枢神经系统病变为特征的森林脑炎。因该病首先在俄罗斯的远东地区发现，以春夏季发病为主，故又称为俄罗斯春夏脑炎（Russian spring-summer encephalitis）。森林脑炎在世界范围内广泛分布，我国东北和西北林区有本病流行，西南地区可能存在自然疫源地。

森林脑炎病毒是黄病毒科的成员之一，其形态和结构和其他生物学特性与其他黄病毒相似。病毒颗粒呈球形，直径为40～50nm，核衣壳二十面体对称，有包膜。基因组为单正链RNA，长约11kb，含单一ORF，编码病毒的三种结构蛋白：衣壳蛋白（C蛋白）、膜蛋白（M蛋白）和包膜蛋白（E蛋白），以及7种非结构蛋白：NS1、NS2a、NS2b、NS3、NS4a、NS4b、NS5。E蛋白是最重要的病毒蛋白，与病毒的毒力、受体结合、融合活性和血凝活性有关，并可诱导宿主产生保护性免疫应答。NS1蛋白参与病毒RNA的起始合成，NS3和NS5为RNA聚合酶，与病毒RNA的复制有关。根据系统发生学，森林脑炎病毒可分为三个亚型，即欧洲亚型、远东亚型、西伯利亚亚型。不同来源的毒株毒力差异较大，但抗原性较一致。森林脑炎患者的血清与乙型脑炎和圣路易脑炎患者血清在

血凝抑制试验中有交叉反应。森林脑炎病毒动物感染范围广，以小鼠的敏感性最高，多种接种途径均能使之感染。

森林脑炎是一种中枢神经系统的急性传染病，多种野生动物均可作为传染源，蜱是传播媒介，如全沟硬蜱、篦籽硬蜱和微小牛蜱等。病毒不仅能在蜱体内增殖，还能经卵传代，并能在蜱体越冬，因此，蜱既是传播媒介又是储存宿主。在自然疫源地，病毒通过蜱叮咬兽类和野鸟而在动物间增殖和循环。易感人群进入自然疫源地被叮咬而受感染。病毒亦可通过胃肠道传播，感染病毒的山羊可通过乳汁排出病毒，饮用生羊奶可引起感染。此外，实验室工作者和与受感染动物密切接触者还可通过吸入汽溶胶感染。

人感染病毒后，大多数表现为隐性感染，少数感染者经7～14天的潜伏期后突然发病，出现高热、头痛、呕吐，颈项强直、昏睡、肢体弛缓性瘫痪等症状。重症患者可出现发音困难、吞咽困难、呼吸及循环衰竭等延髓麻痹症状，死亡率可高达30%。显性感染和隐性感染均可获得持久的免疫力。

实验室检查可见病毒性脑炎改变，如血白细胞减少，血沉加快，脑脊液糖和氯化物含量正常、蛋白含量增高、淋巴细胞增多等。病原学诊断主要有病毒的分离培养和血清学试验。但由于病毒血症时间短，发病初期血中病毒含量已很低，故病毒分离的阳性率不高。血清学试验有ELISA、血凝抑制试验、中和试验及补体结合试验等，若恢复期血清抗体水平呈4倍或4倍以上升高则有诊断价值。

目前，对森林脑炎没有特效的治疗方法，在感染早期，大剂量丙种球蛋白或免疫血清可能有一定的疗效。特异性预防方法是接种鸡胚或地鼠肾细胞制备的灭活疫苗，经多次接种后可获得可靠的免疫保护作用。

第四节 西尼罗病毒

西尼罗病毒（West Nile virus，WNV）因1937年首次从乌干达西尼罗地区的发热患者体内分离成功而得名。在病毒分类上，西尼罗病毒归属于黄病毒科黄病毒属，其生物学特征与其他黄病毒相似。WNV有两个基因型，其中基因型1致病性强，基因型2无明显的致病性。西尼罗病毒可在鸡胚、人、猴、啮齿类动物和昆虫来源的细胞系中生长，并出现细胞病变。小鼠和豚鼠对病毒脑内接种高度敏感。

西尼罗病毒感染引起西尼罗热和西尼罗脑炎两种临床类型。前者以急性发热、头痛、乏力、皮疹为主要特征，可伴有肌肉、关节疼痛及全身淋巴结肿大等，预后良好。后者起病急骤，体温39℃以上，出现头痛、、恶心、呕吐、嗜睡，伴颈项强直、深浅反射异常等神经系统症状和体征，重症患者出现惊厥、昏迷及呼吸衰竭，死亡率高。

人类及多种动物，如鸟类、马、猪、鸡等对西尼罗病毒易感。患者、隐性感染者和带毒动物为主要传染源。其中鸟类是最重要的传染源，病毒可在鸟的体内大量繁殖，形成高水平的病毒血症。伊蚊和库蚊是主要传播媒介。病毒可在蚊子的唾液腺及神经细胞中大量增殖，一周左右受感染的蚊子即具有传染性，并可终年带毒。此外，病鸟的口腔和泄殖腔分泌物中均含有大量病毒，因此，病毒亦可通过直接接触在鸟与鸟之间传播。

1999年以前，西尼罗病毒感染只出现在东半球，主要分布在非洲、中东、东南亚、欧洲及澳大利亚，主要表现为西尼罗热。1999年夏天，本病传至西半球，美国纽约首先出现病例，随后在北美洲迅速传播，主要表现为脑膜炎或脑膜脑炎，患者出现高热、头痛、意识障碍、弛缓性瘫痪等的症状和体征，死亡率高。本病在美国出现的同时，当地有大批候鸟死亡，推测病毒的传播可能与候鸟的迁徙和生态环境改变有关。目前我国尚未发现西尼罗病毒感染的病例，但我国具备西尼罗病毒传播的气候条件和传播媒介，因此，必须重视对该病毒的监测和研究。

展 望

虫媒病毒种类繁多，传播媒介分布广泛，在世界范围内引发严重传染病的流行。近年来，由于生态改变和人类活动等因素的影响，新的虫媒病毒和新的传播媒介不断出现，虫媒病毒病的流行范围日益扩大，已不再局限在热带、亚热带和发展中国家流行。因此，虫媒病毒病已成为全球性的严重的公共卫生问题。

我国地域辽阔，媒介昆虫种类繁多，具有大多数虫媒病毒生存的自然条件。目前在我国引起疾病流行的虫媒病毒种类虽然不多，但不断有新的虫媒病毒被分离出来。迄今，我国已分离到的虫媒病毒有14种，并有数十株病毒尚未确定种类，并可能存在更多未被发现的虫媒病毒，这些病毒对人民健康存在潜在的威胁。因此，目前我国公共卫生的重要任务之一是尽快阐明我国虫媒病毒的确切种类、分布、传播媒介、储存宿主以及与人类疾病的关系，提高我国对新发虫媒病毒病的预警、预报和防治能力。

目前对虫媒病毒病尚无特效的治疗方法，因此预防疾病的发生尤为重要。预防的策略是控制传播媒介和疫苗接种。在媒介控制方面，由于不同的虫媒病毒有不同的传播媒介，因此关键是要找出其主要传播媒介及其控制手段。在特异性预防方面，由于虫媒病毒感染可诱导稳定而持久的免疫保护反应，因此，疫苗接种是有效的预防手段。但由于虫媒病毒种类繁多，目前许多虫媒病毒病尚没有有效的疫苗可供预防。因此，疫苗研究是该领域的重要课题。迄今，研制成功并广泛应用的虫媒病毒疫苗有黄病毒减毒活疫苗、乙型脑炎病毒灭活疫苗、乙型脑炎病毒活疫苗、森林脑炎病毒灭活疫苗和委内瑞拉马脑炎（VEE）病毒减毒活疫苗等。近年来，乙脑病毒、登革病毒和西尼罗病毒等多种虫媒病毒的基因工程疫苗、亚单位疫苗、核酸疫苗等新型疫苗的研究也取得了较大的进展。此外，由于虫媒病毒具有组内共同抗原，可诱导交叉免疫反应，因此具有组内免疫保护作用疫苗的研究也受到重视。相信不久的将来，将会有稳定和高效的新型虫媒病毒疫苗问世。

（江丽芳）

第二十七章　出血热病毒

出血热病毒是指由节肢动物或啮齿类动物传播，引起病毒性出血热（viral hemorrhagic fever）的一大类病毒。病毒性出血热以“3H”症状，即hyperpyrexia（高热）、hemorrhage（出血）、hypotension（低血压）和较高的死亡率为主要临床特征。节肢动物或啮齿类动物为出血热病毒的自然宿主（natural reservoir）。病毒通过带毒动物在自然界传播，人类在接触感染动物及其排泄物时被感染，因此，病毒性出血热是一种自然疫源性疾病。不同的出血热病毒传播途径不同，归纳起来有四种，即蜱媒传播、蚊媒传播、动物源性传播和其他途径传播。出血热病毒成员众多，分别属于5个病毒科的7个不同病毒属（表27-1）。目前我国已发现有5种出血热病毒流行，分别是鼠类传播的汉坦病毒、蜱媒传播的克里米亚-刚果出血热病毒和科萨努尔（Kyasanur）森林热病毒、蚊媒传播的登革病毒和基孔肯亚病毒，其中以汉坦病毒和登革病毒的流行和危害最为严重。近年来，在美洲等地出现的汉坦病毒肺综合征以及在非洲地区出现的埃博拉出血热以其发病快、传播迅速、死亡率高而引起世界的广泛关注。

表27-1　人类出血热病毒及其所致疾病

病毒科	病毒属	病毒种	主要媒介	所致疾病	主要分布
布尼亚病毒科	汉坦病毒属	汉滩病毒、汉城病毒等	啮齿动物	肾综合征出血热	亚洲、欧洲、非洲、美洲
		辛诺柏病毒	啮齿动物	汉坦病毒肺综合征	美洲、欧洲
	内罗病毒属	克里米亚-刚果出血热病毒	蜱	克里米亚-刚果出血热	非洲、中亚、中国
	白蛉病毒属	Rift山谷热病毒	蚊	Rift山谷热	非洲
黄病毒科	黄病毒属	登革病毒	蚊	登革热	东南亚、南美
		黄热病病毒	蚊	黄热病	非洲、南美
		Kyasanur森林热病毒	蜱	Kyasanur森林热	印度
		鄂目斯克出血热病毒	蜱	鄂目斯克出血热	俄罗斯
披膜病毒科	甲病毒属	基孔肯雅病毒	蚊	基孔肯雅热	亚洲、非洲
沙粒病毒科	沙粒病毒属	Junin病毒	啮齿动物	阿根廷出血热	南美
		马丘波病毒	啮齿动物	玻利维亚出血热	南美
		Lassa病毒	啮齿动物	Lassa热	非洲
		Sabia病毒	啮齿动物	巴西出血热	南美
		Guanarito病毒	啮齿动物	委内瑞拉出血热	南美
丝状病毒科	丝状病毒属	埃博拉病毒	未确定	埃博拉出血热	非洲
		马堡病毒	未确定	马堡出血热	非洲、欧洲

Hemorrhagic fever viruses are the diverse group of viruses transmitted by arthropods or rodents which have the potential to cause viral hemorrhagic fever. The clinical features of viral hemorrhagic fever are hyperpyrexia, hemorrhage and hypotension. Arthropods or rodents are the natural reservoirs of

hemorrhagic fever viruses and transmit the virus to humans through exposure to infected wild animals and their excreta. The viruses inducing hemorrhagic fever may be classified into seven genera of five families, each has individual transmission routes. In China, the viruses associated with hemorrhagic fever include hantavirus, Crimean-Congo hemorrhagic fever virus, Kyasanur forest virus, dengue virus, and Chikungunya fever virus, among which hantavirus and dengue virus are the most epidemic in China. In the past few years, hantavirus pulmonary syndrome (HPS) reported in Americans and Ebola virus reported in Africa have caught worldwide attention for their rapid onset, quick dissemination and high mortality.

第一节 汉坦病毒

汉坦病毒属于布尼亚病毒科（*Bunyaviridae*）汉坦病毒属（*Hantavirus*），该病毒名称来自汉坦病毒属的原型病毒汉滩病毒（Hantaan virus），为避免在区分属及型的名称时发生混乱，故在译名用字上加以区别。根据其抗原性和基因结构的不同，汉坦病毒可分为十多个型别，其中主要的型别见表27-2。汉坦病毒可引起两种类型的急性传染病，一种是以发热、出血、急性肾功能损害和免疫功能紊乱为突出表现的肾综合征出血热（hemorrhagic fever with renal syndrome，HFRS），另一种是以肺浸润及肺间质水肿，迅速发展为呼吸窘迫、衰竭为特征的汉坦病毒肺综合征（hantavirus pulmonary syndrome，HPS）。

表27-2 汉坦病毒的主要型别

病毒型	主要宿主	所致疾病	主要分布
汉滩病毒（Hantaan virus）	黑线姬鼠	HFRS（重）	亚洲东部、欧洲东部
汉城病毒（Seoul virus）	褐家鼠	HFRS（中）	亚洲东部
普马拉病毒（Puumala virus）	棕背䶄	HFRS（轻）	欧洲北部、东部
辛诺柏病毒（Sin Nombre virus）	鹿鼠	HPS	美洲、欧洲
希望山病毒（Prospect Hill virus）	草原田鼠	不详	美洲

一、生物学性状

（一）形态与结构

汉坦病毒颗粒具有多形性，多数呈圆形或卵圆形，大小也不尽一致，直径在75～210nm之间，平均直径为120nm。核酸类型为分节段的单股负链RNA，病毒颗粒表面有双层脂质包膜，包膜表面有由糖蛋白组成的突起（图27-1）。

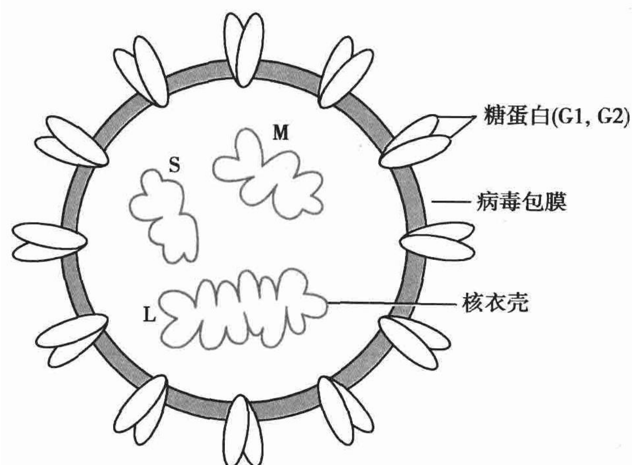


图27-1 汉坦病毒形态示意图

（二）基因组及结构蛋白

汉坦病毒的基因组为单股负链RNA，分为大（L）、中（M）、小（S）三个片段，分别编码病毒的RNA聚合酶（L）、包膜糖蛋白（G1和G2）和核衣壳蛋白（NP）。不同血清型汉坦病毒的S、M、L三个片段的末端14个核苷酸序列高度保守，3′端为AUCAUCAUCUGAGG，5′末端为UAGUAGUAG（G/A）CUCC，这些互补序列可使病毒基因组RNA通过非共价的碱基配对形成环状或柄状结构，从而保持RNA

的稳定性，并可能与病毒的复制和装配有关。

1. L片段及RNA聚合酶　汉坦病毒L片段长约6.3 ~ 6.5kb，含有一个阅读框，从36 ~ 39位核苷酸AUG（起始密码）到6490位或6504位核苷酸后UAA（终止密码），编码2150 ~ 2156个氨基酸形成的蛋白，相对分子质量约为250×10^3。目前研究表明L片段只编码一种蛋白质即RNA聚合酶，没有发现编码其他非结构蛋白，因此认为L片段与病毒的复制和转录有关。

2. M片段及G1、G2糖蛋白　汉坦病毒的M片段全长在3.6 ~ 3.7kb之间，只含有一个开放读码框，可编码一个包含G1和G2两个糖蛋白的长度为1132 ~ 1184个氨基酸的前体大蛋白。G1和G2都有独立的起始密码子，其中G1蛋白至少延伸到第588个氨基酸，G2蛋白延伸到编码区的终止密码子。汉坦病毒M片段的mRNA的蛋白质编码顺序为5'-G1-G2-3'，其中部有一个由5个氨基酸残基（WAASA）组成的共翻译切割位点。编码的前体蛋白在内质网经过初级糖基化后，分裂成G1、G2糖蛋白，进而在高尔基复合体内完成糖基化。G1和G2糖蛋白富含半胱氨酸，在汉坦病毒包膜糖蛋白上至少存在9个中和抗原位点，其中2个在G1上，7个在G2上，因此G1和G2糖蛋白均可诱导机体产生特异性中和抗体，有较强的免疫保护作用。汉坦病毒具有血凝活性，在pH5.6 ~ 6.8时可凝集鹅红细胞，其血凝活性位点主要存在于G2糖蛋白上。

3. S片段及NP　汉坦病毒S片段全长在1.6 ~ 2.0kb之间（大部分为1.7kb左右），其3’端近1/3长的序列是非编码区，不同型别汉坦病毒S片段的差异主要在于此非编码区，但此非编码区的功能还不清楚。所有汉坦病毒S片段的编码区长度基本接近，约1300个碱基，含有一个长的开放读码框，编码相对分子质量约为50×10^3的NP。NP为非糖基化蛋白，羧基端具有高度保守序列，可识别RNA片段的非编码区并与之结合形成复合体，再与RNA聚合酶一起组成病毒的核衣壳，因此NP的主要功能是包裹RNA片段，在病毒的装配过程中起作用。NP具有极强的免疫原性，可刺激机体产生强烈的体液免疫和细胞免疫应答，一方面参与了机体的抗病毒免疫，另一方面在免疫病理损伤方面可能也起重要作用。此外，在某些汉坦病毒的S片段mRNA上发现有非结构蛋白编码区，编码相对分子质量约为$7\sim10\times10^3$的蛋白质，可能在病毒的复制与装配过程中起作用。

由于汉坦病毒为分节段的RNA病毒，因此容易发生变异。变异的机制包括核苷酸的点突变、缺失突变、节段内的基因重组以及片段间的基因重配（reassortment）等。在三个基因片段中M片段的变异最为显著，其原因可能与其编码的包膜糖蛋白所承受的宿主免疫压力有关，L节段最为保守，S节段的变异性介于L节段和M节段之间。目前发现的汉坦病毒基因重配都是同型间的重配。

（三）培养特性

多种传代、原代及二倍体细胞均对汉坦病毒敏感。实验室常用非洲绿猴肾细胞（Vero-E6）、人肺癌传代细胞系（A549）等来分离该病毒。病毒在细胞内增殖一般不引起可见的细胞病变，通常需采用免疫学方法来检测证实。此外，多种正常动物细胞，包括人胚肺二倍体细胞（2BS）、大鼠肺原代细胞（RLC）、地鼠肾原代细胞（GHKC）、长爪沙鼠肾原代细胞（MGKC）、长爪沙鼠肺原代细胞（MGLC）、鸡胚成纤维细胞（CEC）等均对汉坦病毒敏感。汉坦病毒在培养的细胞中生长较为缓慢，病毒滴度一般在接种病毒后的7 ~ 14天后才达高峰。不同型别及不同毒株的病毒在细胞中的生长速率有一定的差别，这种差别主要与病毒在培养系统中的适应性有关，与病毒致病性的强弱可能也有一定关系。

汉坦病毒的易感动物有多种，如黑线姬鼠、长爪沙鼠、小白鼠及大白鼠等，但除了小白鼠乳鼠感染后可发病及致死外，其余均无明显症状；小白鼠乳鼠的发病也与人类HFRS的症状体征完全不同，因此目前尚无HFRS的动物模型。

（四）抵抗力

汉坦病毒的抵抗力不强。对酸和脂溶剂（如乙醚、氯仿、丙酮、苯等）敏感；一般消毒剂如来苏儿、苯扎溴铵等能灭活病毒；56 ~ 60℃ 30分钟以及紫外线照射（50cm、30分钟）也可灭活病毒。

二、流行病学特征

（一）传染源和宿主动物

迄今世界上已报道包括哺乳纲、鸟纲、爬行纲和两栖纲在内的近200种或亚种动物可以感染汉坦病毒，但经研究证实其主要宿主动物和传染源均为啮齿动物，在啮齿动物中又主要是鼠科中的姬鼠属、家鼠属和仓鼠科中的林鼠平属、白足鼠属等。一般认为汉坦病毒有着较严格的宿主特异性，不同型别的汉坦病毒有不同的啮齿动物宿主，因此，不同型别汉坦病毒的分布主要是由宿主动物的分布不同所决定的。动物感染病毒后表现为亚临床感染、慢性感染或持续性感染，带毒动物通过唾液、尿和粪便等排泄物排出病毒，污染环境，传播疾病。

（二）传播途径

目前认为汉坦病毒可能的传播途径有3类5种，即动物源性传播（包括通过呼吸道、消化道和伤口途径）、虫媒（螨媒）传播和垂直（胎盘）传播。其中动物源性传播是主要的传播途径，即携带病毒的动物通过唾液、尿、粪等排出病毒污染环境，人或动物通过呼吸道、消化道摄入或直接接触感染动物受到传染。在动物实验中有证据表明革螨和恙螨可通过吸血传播汉坦病毒，但这种传播方式对人类感染的作用还有待证实。感染病毒的孕妇有可能经胎盘将病毒传给胎儿，带毒孕鼠亦可将病毒传给胎鼠。另外，虽然能够从HFRS患者的血、尿中分离到病毒，但尚未见在人—人之间水平传播HFRS的报道，只是在HPS中才证明存在有人—人之间的水平传播。

（三）易感人群

人类对汉坦病毒普遍易感，但多呈隐性感染，仅少数人发病，病后可获得稳定而持久的免疫，再次发病者极为罕见。正常人群的隐性感染率因病毒的型别和生活条件的不同而异，从1%～20%，其中以汉城病毒的隐性感染率最高。

（四）流行地区和季节

HFRS流行于世界上（主要是欧亚大陆）近40个国家和地区，而其疫源地则遍布五大洲的80多个国家和地区，使得全球一半以上人口受到其威胁，已成为一个世界性的严重的公共卫生问题。HPS于1993年春季首先在美国西南四角地区暴发流行，其病情进展迅速，死亡率高达60%以上，以后美洲及欧洲的许多国家均发现HPS病例。

我国是目前世界上HFRS疫情最严重的国家，具有流行范围广、发病人数多、死亡率较高的特点。HFRS的发生和流行具有明显的地区性和季节性，这种地区性和季节性与宿主动物（鼠类）的分布与活动密切相关。在我国，汉坦病毒的主要宿主动物和HFRS的感染源是黑线姬鼠和褐家鼠，主要存在着姬鼠型疫区、家鼠型疫区和混合型疫区。姬鼠型疫区的HFRS流行高峰主要在11～12月间（6～7月间还有一小高峰），家鼠型疫区的流行高峰在3～5月间，而混合型疫区在冬、春季均可出现流行高峰。迄今为止，我国尚未见HPS的病例报道。

三、致病性与免疫性

（一）致病性

汉坦病毒可以引起HFRS和HPS。这两种疾病的临床表现差异很大，发病机制也不尽相同。HFRS典型的临床表现为发热、出血和急性肾功能损害。在发病初期患者眼结膜、咽部、软腭等处充血，软腭、腋下、前胸等处有出血点，常伴有“三痛”（头痛、眼眶痛、腰痛）和“三红”（面、颈、上胸部潮红）；几天后病情加重，可表现为多脏器出血及肾衰竭。HFRS的病死率依据型别不同而差别较大，姬鼠型高，家鼠型低，从3%～15%不等。HPS以发热，进行性加重的咳嗽和急性呼吸衰竭为主要临床特征，一般没有严重的出血现象，表现为急骤发病，发病初期有畏寒、发热、肌肉疼痛、头痛等非特异性症状，2～3天后迅速出现咳嗽、气促和呼吸窘迫，继而发生呼吸衰竭，病死率高达50%～70%。

HFRS和HPS既具有共同的病理表现，如小血管和毛细血管的广泛性损伤，血管内皮细胞肿胀、坏死，血管通透性增高、渗出、水肿和出血，但又具有各自的病理特征，HFRS的病理改变主要在肾脏，表现为肾小管坏死，肾小球血管充血和出血，肾间质水肿、炎细胞浸润；HPS的病理改变以肺组织最为明显，表现为严重肺水肿，血管内血栓形成，间质性肺炎并伴有不同程度的充血及单核细胞浸润。

汉坦病毒的致病机制尚未完全明了，目前认为可能与病毒的直接损伤作用和免疫病理反应有关。

1. 病毒的直接损伤作用　汉坦病毒具有泛嗜性，可感染体内多种组织细胞，如血管内皮细胞，T淋巴细胞、B淋巴细胞、单核巨噬细胞和脑胶质细胞等，但主要的靶细胞是血管内皮细胞，病毒在血管内皮细胞内增殖，引起内皮细胞损伤、血管通透性增加。研究结果表明，病毒可在感染细胞内增殖，并造成空泡样变，在HFRS患者的肾脏和HPS患者的肺组织，均发现病毒颗粒和病毒的抗原成分，提示病毒有直接致病作用。

2. 免疫病理损伤　目前认为，汉坦病毒诱导的机体免疫（包括体液免疫和细胞免疫）具有双重作用，既参与机体对病毒的清除，又可介导对机体的免疫损伤，参与病毒的致病过程。①Ⅲ型超敏反应：在HFRS的发病早期，患者血中即出现高滴度的特异性抗体，在血清中可检出循环抗原-抗体复合物，肾小球基底膜有抗原-抗体复合物沉积，血清补体水平降低，提示Ⅲ型超敏反应可能参与HFRS的致病过程。大量的免疫复合物沉积在皮肤、小血管和肾小球基底膜，激活补体，释放生物活性物质，进一步引起血管通透性增加和细胞损伤；②Ⅰ型超敏反应：HFRS患者血中IgE和组胺水平升高，毛细血管周围有肥大细胞浸润和脱颗粒，说明HFRS患者存在Ⅰ型超敏反应；③细胞免疫反应: HFRS和HPS急性期外周血特异性$CD8^{+}$T淋巴细胞，NK细胞活性增强，IFN、TNF、sIL-2受体水平明显增高，IL-2水平下降，提示细胞免疫可能在汉坦病毒的致病过程中起重要作用。

（二）免疫性

HFRS患者在发热1～2天即可检测出IgM抗体，第7～10天达高峰，第2～3天可检测出IgG抗体，第14～20天达高峰。HFRS病后可获得对同型病毒的持久免疫力，IgG抗体在体内可持续存在30余年，但隐性感染产生的免疫力却多不能持久。近年来的研究结果表明，在不同的抗体成分中，对机体起免疫保护作用的主要是由汉坦病毒G1和G2糖蛋白刺激产生的中和抗体，细胞免疫在对机体的免疫保护中也起重要作用。HFRS病后可获稳定而持久的免疫力，二次发病者极为罕见。

四、微生物学检查法

（一）病毒分离

病毒分离只用于少数情况下，如某一地区第一例HFRS患者的确定或怀疑感染新的病毒亚型等。取患者急性期血液（或死者脏器组织）或感染动物肺、肾等组织接种于Vero-E6细胞，培养7～14天，由于病毒在细胞内生长并不引起明显的病变，因此可用免疫荧光染色检查细胞内是否有病毒抗原，胞质内出现黄绿色颗粒状荧光为阳性。也可取检材通过脑内接种小白鼠乳鼠，逐日观察动物有无发病或死亡，并定期取动物脑、肺等组织，用免疫荧光法或ELISA法检查是否有病毒抗原。用细胞或动物分离培养阴性者应继续盲传，连续三代阴性者方能肯定为阴性。

（二）血清学检查

1. 检测特异性IgM抗体　特异性IgM抗体在发病后1～2天即可检出，早期阳性率可达95%以上，不典型病例或轻型病例亦是如此，因此检测出此抗体具有早期诊断价值。检测方法有间接免疫荧光法和ELISA法，后者又可分为IgM捕捉法和间接法，其中以IgM捕捉法的敏感性和特异性为最好。

2. 检测特异性IgG抗体　病后特异性IgG抗体出现也较早，且维持时间很长，因此需检测双份血清（间隔至少一周），第二份血清抗体滴度升高4倍或4倍以上方可确诊。常用检测方法为间接免疫荧光法和ELISA法。此两种方法检测IgG抗体还可用于HFRS的血清流行病学调查。

3. 检测血凝抑制抗体　采用血凝抑制试验检测患者血清中的特异性血凝抑制抗体，在辅助诊断和流行病学调查中也较常用。

（三）病毒核酸检测

RT-PCR技术已广泛用于汉坦病毒的实验室研究和检测，用RT-PCR或套式PCR技术可检测标本中的病毒核酸片段，并可对汉坦病毒进行型别鉴定；原位杂交技术可检测组织细胞内的汉坦病毒核酸成分。

五、防治原则

（一）预防

一般预防主要采取灭鼠、防鼠、灭虫、消毒和个人防护措施。迄今为止国内已研制成功三类HFRS疫苗，即纯化乳鼠脑灭活疫苗、细胞培养灭活单价疫苗（汉滩型或汉城型）和细胞培养灭活双价疫苗（汉滩型和汉城型）。这三类灭活疫苗在接种人体后均可刺激产生特异性抗体，大规模接种观察也表明其对预防HFRS有较好效果。

（二）治疗

对于HFRS的早期患者，一般均采用卧床休息，以及以“液体疗法”（输液调节水与电解质平衡）为主的综合对症治疗措施，利巴韦林治疗具有一定疗效。

国内研制的“注射用抗肾综合征出血热病毒单克隆抗体”已完成三期临床试验，结果表明其安全性好，疗效确切，优于常规治疗药物。

第二节　克里米亚-刚果出血热病毒

克里米亚-刚果出血热病毒（Crimean-Congo hemorrhagic fever virus，CCHFV）引起以发热、出血、高病死率为主要特征的克里米亚-刚果出血热。该病是一种人兽共患病，1944年首先发现于前苏联的克里米亚半岛，1967年从患者及疫区捕获的硬蜱中分离到病毒，并证实该病毒与1956年从刚果的一名发热儿童血液中分离到的病毒相同，于是命名为克里米亚-刚果出血热病毒。1965年，我国新疆部分地区发生了一种以急性发热伴严重出血为特征的急性传染病，该病与国内其他地区流行的出血热不同，故定名为新疆出血热；后来从患者的血液、尸体内脏及硬蜱中分离出了病毒，称为新疆出血热病毒。后来经形态学和血清学等研究证实，该病毒与已知的克里米亚-刚果出血热病毒相同。因此，新疆出血热实际上是克里米亚-刚果出血热在新疆地区的流行。

一、生物学性状

（一）形态与结构

克里米亚-刚果出血热病毒属布尼亚病毒科内罗病毒属（*Nairovirus*），该病毒的形态、结构、培养特性和抵抗力等与汉坦病毒相似，但抗原性、传播方式、致病性以及部分储存宿主却不相同。病毒颗粒呈球形，直径90～120nm，有包膜，表面有刺突。基因组为单股负链RNA，含大（L）、中（M）、小（S）三个节段，分别编码病毒的RNA多聚酶、包膜糖蛋白和核衣壳蛋白。

（二）分离培养

分离培养病毒常用Vero-E6或LLC-MK2细胞，病毒在细胞增殖并形成空斑。乳鼠对该病毒敏感，1～2日龄乳鼠脑内接种病毒后，5～6天开始发病死亡。新生地鼠和大鼠也能作为实验动物，感染病毒后可发病死亡。

（三）抵抗力

病毒对乙醚、氯仿、去氧胆酸等脂溶剂和去污剂敏感，能被低浓度的甲醛灭活，紫外线照射3分钟、56℃ 30分钟能使其感染性完全丧失，75%的乙醇亦可使之灭活。

二、流行病学特征

（一）传染源和储存宿主

克里米亚-刚果出血热病毒的主要储存宿主是啮齿类动物、牛、羊、马、骆驼等家畜及野兔、刺猬和狐狸等。硬蜱特别是亚洲璃眼蜱（*Hyalomma asiaticum*）既是该病毒的传播媒介，也因病毒在蜱体内可经卵传代而成为储存宿主。

（二）传播途径

克里米亚-刚果出血热的传播途径包括虫媒传播、动物源性传播和人-人传播。虫媒传播是主要的传播途径，通过带毒硬蜱叮咬而感染；动物源性传播主要指与带毒动物直接接触或与带毒动物的血液、排泄物接触传播；人—人传播主要是通过接触患者的血液、呼吸道分泌物、排泄物和气溶胶而引起感染，并可造成医院内暴发流行。

（三）流行地区和季节

克里米亚-刚果出血热是一种自然疫源性疾病，流行范围广，主要分布在俄罗斯南部、欧洲东部及南部、非洲大部及亚洲部分地区的生态学完全不同的30多个国家和地区。我国新疆除1965年暴发本病的流行外，1997年再度暴发，且疫区不断扩大，危害日益严重。此外，我国的青海、云南、四川、内蒙古和海南等省区的人群和动物亦有特异性抗体阳性的报道。人群对该病毒普遍易感，但以青壮年发病率较高，这可能与这组人群与传染源接触机会较多有关。发病有明显的季节性，4～5月为发病的高峰期，6月份以后病例较少，这与蜱在自然界的消长情况及牧区活动的繁忙季节相一致。

三、致病性与免疫性

（一）致病性

克里米亚-刚果出血热的潜伏期为5～7天。急骤起病，以高热、出血为主要临床特征。初期表现为高热、剧烈头痛和肌痛等全身中毒症状，病后3～5天开始发生大面积出血现象，皮肤、黏膜、胃肠道和泌尿生殖道广泛出血，严重者因大出血、休克、广泛弥散性血管内凝血（DIC）而死亡，死亡率可达20%～70%。

克里米亚-刚果出血热病毒的致病机制目前尚不清楚，目前认为可能与病毒的直接损害作用有关。血管内皮细胞、单核巨噬细胞和肝细胞是病毒感染的主要靶细胞，病毒在细胞内增殖，引起靶细胞的损伤。此外，患者血清补体水平下降，并检测到循环免疫复合物，提示免疫病理损伤可能也参与病毒的致病过程。

（二）免疫性

发病后一周左右血清中出现中和抗体，两周左右达高峰，并可持续多年。病后免疫力持久。

四、微生物学检查法

（一）病毒的分离培养和鉴定

采取急性期患者的血清、血液或尸检样本或动物、蜱的样本经脑内途径接种小白鼠乳鼠分离病毒，4～10天后小鼠发病死亡，脑组织存在高滴度病毒。亦可采用敏感细胞分离培养病毒。

（二）血清学检查

早期曾采用补体结合试验、中和试验、琼脂扩散试验等技术检测患者血清中特异性抗原或抗体。目前，常用方法为间接免疫荧光试验、酶联免疫吸附试验（ELISA）、反向被动血凝抑制试验等检测特异性IgG和IgM，IgM检测可用于早期快速诊断。

（三）病毒核酸检测

采用核酸杂交技术、RT-PCR技术检测标本中病毒的核酸片段，是快速、敏感、特异的诊断方法，目前已得到较广泛的应用。

五、防治原则

目前对克里米亚-刚果出血热没有可供使用的疫苗，也没有特效的治疗方法，加强个人防护、避免与传染源和传播媒介接触、控制和消灭传播媒介及啮齿类动物是主要的预防手段。对患者应进行严格隔离；医护人员必须进行严密的防护以防止人-人传播。近年来，我国研制的新疆出血热精制鼠脑灭活疫苗已在牧区现场试用，免疫预防效果有待进一步考察。

第三节 埃博拉病毒

埃博拉病毒（Ebola virus）以首先发现患者的地点而得名，可引起高致死性的出血热，以高热、全身疼痛及广泛性出血、多器官功能障碍和休克为主要特征。该病主要流行于非洲，自1976年以来已在非洲暴发数次，致死率约为50%～90%，是人类迄今为止所发现的致死率最高的一种病毒。

一、生物学性状

（一）形态与结构

埃博拉病毒属于丝状病毒科（*Filoviridae*）丝状病毒属（*Filovirus*）。病毒颗粒为多形性的细长丝状，长短不一，最长可达14μm，直径约80nm。病毒颗粒有类脂包膜，包膜表面有长约7nm的糖蛋白刺突。衣壳为螺旋对称（图27-2）。病毒基因组为单股负链RNA，长约12.7kb，由7个开放阅读框组成，依次为5′-L-VP24-VP30-G-VP40-VP35-N-3′，基因之间有重叠。根据埃博拉病毒抗原的不同，可将其分为四个亚型，即埃博拉-扎伊尔、埃博拉-苏丹、埃博拉-科特迪瓦和埃博拉-莱斯顿。

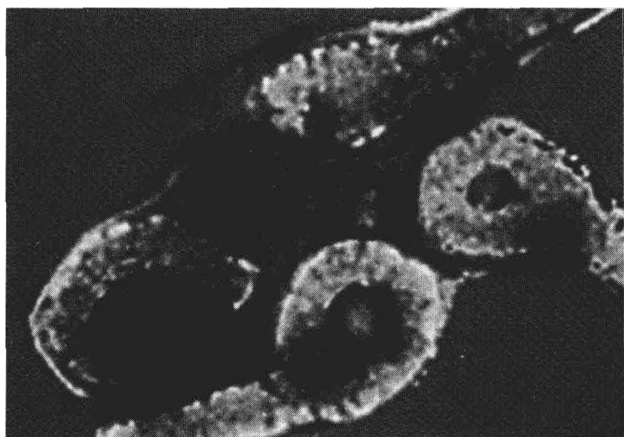


图27-2 Ebola病毒电镜下形态（×42000）

（二）培养特性

最常用的培养细胞为Vero细胞、MA-104、SW-13及人脐静脉内皮细胞等。病毒在胞浆内增殖，以芽生方式释放。埃博拉病毒可在多种培养细胞中生长，病毒接种后7天可出现典型的细胞病变，并出现嗜酸性包涵体。

埃博拉病毒可感染猴、乳鼠、田鼠和豚鼠，引起动物死亡。在恒河猴和非洲绿猴的实验性感染中，潜伏期4～16天，病毒在肝、脾、淋巴结和肺中高度增殖，引起器官严重坏死性损伤，以肝脏最为严重，并伴有间质性出血，以胃肠道出血最为明显。

（三）抵抗力

埃博拉病毒的抵抗力不强，在60℃ 30分钟的条件下死亡，对紫外线、脂溶剂、β-丙内脂、酚类及次氯酸敏感，但在室温（20℃）可稳定地保持其感染性。

二、流行病学特征

（一）传染源和储存宿主

埃博拉出血热是一种具有高度传染性的疾病，人群普遍易感。感染者（包括人和其他灵长类动物）为传染源。虽然曾对流行区的哺乳类动物、鼠类、鸟类及昆虫等进行过病毒的分离，但迄今对埃博拉病毒的储存宿主仍未完全清楚，大多数人认为蝙蝠是储存宿主。

（二）传播途径

传播途径主要有：①密切接触：急性期患者血液中病毒含量非常高，这种高病毒血症可持续至患者死亡。患者的呕吐物、排泄物和结膜分泌物等都具有高度的传染性。接触患者的血液、体液和排泄物是产生感染病例的最重要原因。医护人员或患者家庭成员与患者密切接触是造成埃博拉出血热扩大蔓延的一个重要因素；②注射传播：使用受到污染、未经消毒的注射器和针头可造成埃博拉出血热的传播；③空气传播：研究证实，猕猴中埃博拉出血热的传播可因气溶胶引起，提示人类埃博拉出血热亦可经空气传播。

（三）流行地区

埃博拉出血热目前主要流行于非洲地区。最早于1976年在非洲的苏丹南部和扎伊尔北部同时暴发大规模流行，有602人发病，病死率高达72%。以后在1995年（扎伊尔）、2000～2001年（乌干达）、2001～2002年（加蓬）、2003年（刚果）又发生了几次较大规模的流行。

三、致病性与免疫性

（一）致病性

埃博拉病毒通过皮肤黏膜侵入宿主，主要在肝内增殖，亦可在血管内皮细胞、单核巨噬细胞及肾上腺皮质细胞等处增殖，导致血管内皮细胞损伤、组织细胞溶解、器官坏死和严重的病毒血症。单核巨噬细胞释放TNF-α等炎症介质及血管内皮细胞损伤是导致毛细血管通透性增加、皮疹、出血和休克的主要原因。

埃博拉出血热的潜伏期为2～21天，临床特征是突发起病，开始表现为高热、头疼、肌痛、乏力等非特异症状，随后病情迅速进展，呈进行性加重并出现呕吐、腹痛、腹泻等。发病5～7天后，可发生出血现象，表现为呕血、黑便、瘀斑、黏膜出血及静脉穿刺处流血不止。患者明显消瘦、虚脱和感觉迟钝。病后7～16天常因休克、多器官功能障碍、弥散性血管内凝血和肝肾衰竭而死亡，病死率可高达90%。

（二）免疫性

患者发病后7～10天后出现特异性IgM、IgG抗体，IgM抗体可维持3个月，IgG抗体可维持更长时间；但也有重症患者至死也未能检出抗体。特别值得指出的是，即使在疾病的恢复期也难以检出具有中和活性的抗体，输入恢复期血清也无明显的保护作用，说明疾病的恢复与体液免疫可能关系不大，而可能与细胞免疫有关。

四、微生物学检查法

埃博拉病毒传染性极强，早期临床症状易与其他病毒性出血热混淆，因此，及时准确地检出埃博拉病毒，对控制埃博拉出血热的流行和临床治疗具有重要意义。标本的采集和处理必须在严格安全防护的生物安全三级或四级实验室内进行。

（一）病毒的分离培养

采取适宜的标本进行动物接种或细胞培养以分离病毒。患者急性期标本的病毒分离阳性率很高，恢复期标本也有较高的阳性率。

（二）辅助检验诊断

可用病毒感染的培养细胞提取物作抗原，用ELISA法检测血清中的特异性IgM或IgG，以进行血清学诊断。另外还可用免疫荧光技术或免疫组化技术检测病毒抗原，用RT-PCR法检测病毒RNA。

五、防治原则

目前尚无安全有效的疫苗对埃博拉出血热进行预防。主要采取综合性措施预防，包括发现可疑

患者应立即隔离，严格消毒患者接触过的物品及其分泌物、排泄物和血液等，尸体应立即深埋或火化。对与患者密切接触者应进行监测，体温 > 38.3℃立即入院隔离。建立屏障治疗和护理常规，使用高效层流装置防止气溶胶感染及避免肠道外感染等。此外，应加强对进口灵长类动物的检疫。

目前尚无对埃博拉出血热有效的治疗药物，主要采用强化支持疗法。

展 望

近年来对出血热病毒及其所致疾病的研究取得了很多有重要意义的进展。分离和鉴定出了一些新的出血热病毒（特别是高致病性的SNV）；研究阐明了多种出血热病毒的基因及其蛋白的结构与主要功能；明确了几种出血热病毒的传染源、主要宿主动物及流行规律；对HFRS的发病与免疫机制有了更深刻的认识，特异性检验诊断方法不断得到改进和推广应用，预防疫苗和特异性治疗制剂的研究也取得了长足的进展。但是也应清醒地认识到，在出血热病毒研究及其所致疾病的诊、防、治中仍有许多难关有待攻破，主要包括汉坦病毒变异规律及其与动物宿主和对人类致病的关系，汉坦病毒确切的传播途径，合适的HFRS和HPS感染动物模型的建立，HFRS和HPS的发病与免疫机制的进一步阐明，研制更为有效和特异的治疗制剂等等。尤其值得指出的是，要有效控制病毒性出血热这类传染源和宿主动物广泛、传播途径多样的自然疫源性疾病，关键还是要靠疫苗。而目前多数出血热还没有疫苗或其免疫效果尚不理想，因此，疫苗的研制仍是今后出血热病毒及其所致疾病的研究中最重要的方向之一。另外，出血热病毒的种类繁多，虽然目前在我国流行的只有肾综合征出血热、克里米亚-刚果出血热和登革出血热三种，但由于新病毒的不断出现，加上国际间交往日益频繁，其他病毒性出血热也有可能在我国出现和流行。因此，必须加强对出血热病毒及其所致疾病的监测和预警，并做好相应的防治技术储备，防患于未然。

（徐志凯 张芳琳）

第二十八章 疱疹病毒

疱疹病毒（herpesvirus）为一群结构相似，大小中等的有包膜双链DNA病毒。现已发现有100多种，分为α、β、γ三个亚科。能感染多种动物和人，与人类感染相关的疱疹病毒称为人类疱疹病毒(human herpes virus,HHV)。目前已发现的人类疱疹病毒有8种,分别为单纯疱疹病毒1型(herpes simplex virus 1，HSV-1)、单纯疱疹病毒2型（herpes simplex virus 2，HSV-2)、水痘带状疱疹病毒(varicella-zoster virus，VZV)、人巨细胞病毒（human cytomegalovirus，HCMV)、EB病毒（Epstein-Barr virus，EBV）以及人疱疹病毒6型（human herpes virus 6，HHV-6)、人疱疹病毒7型（human herpes virus 7，HHV-7）和人疱疹病毒8型（human herpes virus 8，HHV-8)。此外，猿猴疱疹B病毒（herpes B virus of monkeys）偶可引起人类感染。

The herpesvirus family comprises over 100 viruses that infect a wide range of vertebrates and at least one invertebrate (the oyster). Viruses of this family have envelopes and contain double-stranded DNA as their genetic material. The hallmark of herpesvirus infections is the establishment of a lifelong, latent infection that can reactivate to cause one or more rounds of disease. Many herpesvirus infections are not apparent, but if the host' s immune defenses are compromised, infections can be devastating.

Humans are the natural hosts of eight different herpesviruses: herpes simplex virus (HSV) type 1 and 2, varicella-zoster virus (VZV), Epstein-Barr virus (EBV), human cytomegalovirus (HCMV) and human herpesvirus (HHV) 6, 7, and 8 (also known as Kaposi' s sarcoma-associated herpesvirus).

HSV-1, HSV-2 and VZV infect epithelial cells. HSV-1 and HSV-2 cause lifelong infections, clinically, HSV-1 typically causes orolabial lesions, although either virus can cause genital herpes. HSV reactivation from latency in the neurons of sensitive ganglia occur periodically and lead to mucocutaneous regions where productive replication causes recurrent clinical manifestations. In severely immunocompromised HIV-1 infected patients, HSV infections frequently present as chronic, necrotic, extended and confluent mucocutaneous ulcerations. Primary infection with VZV causes varicella (chicken pox), and then incubates in sensory neurons. The virus reactivates in around 25% of infected individuals to cause herpes zoster (shingles).

During primary infection or reactivation, HCMV is able to infect virtually all organs and tissues, including macrophages, endothelial, epithelial, stromal, neuronal and smooth muscle cells. On initial infection or viral reactivation, HCMV can cause serious and even fatal complications in fetuses or immunocompromised individuals.

EBV, HHV-6, HHV-7 and HHV-8 infect lymphocytes. EBV is a ubiquitous infections agent that infects greater than 80% of the world' s population. EBV is linked to the development of several malignancies, primarily of lymphoid and epithelial origin, including post-transplant lymphoma, AIDS-associated lymphomas, Hodgkin' s diseases, T-cell lymphoma nasopharyngeal carcinoma (NPC), parotid gland carcinoma, and gastric carcinoma. HHV-8 also infects B lymphocytes and is the primary

etiological agent of Kaposi's sarcoma，primary effusion lymphoma and multicentric Castleman's disease. HHV-8 was also named as Kaposi' s sarcoma associated- herpesvirus（KSHV）because of the correlation between the virus and Kaposi' s sarcoma. HHV-6 and HHV-7 infect T lymphocytes. HHV-6 is the cause of exanthema subitum. HHV-6 infection can result in febrile syndromes with bone marrow suppression similar to CMV viral syndrome. HHV-6 has also been reported as a cause of hepatitis，pneumonitis. Symptomatic disease due to HHV-7 has been less well documented. Indirect effects of viral replication may include interactions between HHV-6 and -7，and the development of CMV disease.

疱疹病毒共有的重要生物学特性

1. 结构相似，病毒体呈球形，有包膜，直径约150～200nm。核心为线形dsDNA，约75nm；衣壳为二十面体立体对称，由162个壳微粒组成，衣壳外有一层均质的皮层（tegument）围绕，最外层为脂质包膜，其表面刺突是由病毒基因编码的糖蛋白组成（图28-1）。

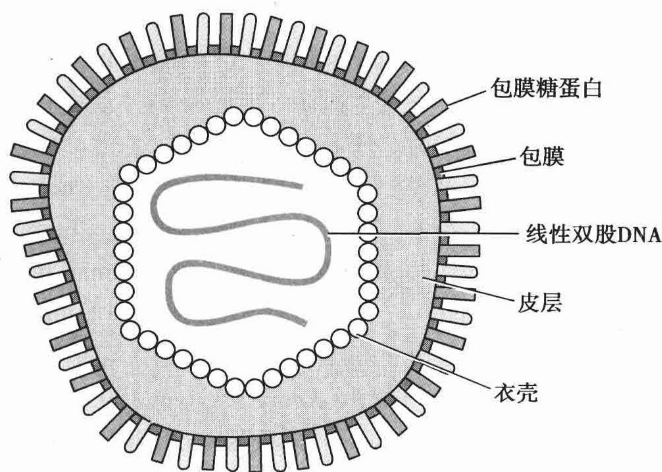


图28-1　疱疹病毒结构示意图

2. 病毒在细胞核内复制和装配，通过核膜出芽，经胞吐或细胞流动方式释放病毒，能引起细胞融合，形成多核巨细胞。

3. 病毒基因编码多种参与病毒复制的酶类，如胸苷激酶（thymidine kinase，TK）和DNA多聚酶，两种酶亦是抗病毒药物作用的靶位。

4. 疱疹病毒感染人体后可表现为溶细胞性感染、潜伏感染和细胞永生化（如EBV），而可在体内不同部位建立潜伏感染是疱疹病毒感染的重要特征之一。如HSV-1主要潜伏于三叉神经节、HSV-2潜伏于骶神经节，而EBV则主要潜伏于B淋巴细胞内。一旦病毒被再激活，可转为显性感染，导致疾病复发。

5. 大多数病毒（EBV、HHV-6和HHV-7除外）均能在人二倍体细胞复制增殖，产生明显的细胞病毒（CPE），表现为细胞肿胀、变圆、形成多核巨细胞，并产生核内嗜酸性包涵体。

人类三种亚科的疱疹病毒主要生物学特征及其所致疾病见表28-1。

病毒基因组结构和转录产物　疱疹病毒的基因组为线性dsDNA，核心约为75nm，不同疱疹病毒的基因组DNA组成差异较大。多数疱疹病毒的DNA分子由长独特片段（unique long，UL）和短独特片段（unique short，US）共价连接组成，并有内部重复序列（internal repeat，IR）和末端重复序列（terminal repeat，TR），在不同的疱疹病毒中重复序列的数量和长度也不同。其中VZV有一组倒置重复，形成两种异构体；HSV和CMV均有两组倒置重复，各形成四种异构体；EBV、HHV-6和HHV-8仅为顺向重复而无倒置重复，故无异构存在。这些重复序列的存在与某些疱疹病毒基因组重组形成异构体（isomer）以及进入感染细胞核内病毒DNA的环化有关（图28-2）。HHV含有71～208个基因，能编码67～197种蛋白。已鉴定的编码基因有糖蛋白和主要衣壳蛋白基因、与复制相关的酶基因和与潜伏有关的转录体。基因组的某些区域有保守序列，另一些基因与人染色体同源。在疱疹病毒内，用限制性内切酶分析和比较病毒基因组，有助于流行病学调查。

疱疹病毒的复制

疱疹病毒感染通常以病毒DNA复制为界定，划分为早期的和晚期的感染，早期感染主要合成病毒的调控蛋白，而晚期感染主要合成病毒的结构蛋白，疱疹病毒与细胞表面受体相互作用后，

表28-1 人类三种亚科疱疹病毒主要生物学特征与所致疾病 *

亚科	种类		主要生物学特征				所致疾病
	正式命名	通用名	宿主范围	复制周期	细胞病变	潜伏部位	
α	人疱疹病毒1型（HHV-1）	单纯疱疹病毒1型（HSV-1）	较广，多种上皮细胞和成纤维细胞	增殖迅速	明显，溶细胞性感染	三叉神经节和颈上神经节神经细胞	唇疱疹（原发或潜伏感染再激活）、角膜炎（原发或潜伏感染再激活）、脑炎/脑膜脑炎（原发或潜伏感染再激活）
	人疱疹病毒2型（HHV-2）	单纯疱疹病毒2型（HSV-2）	较广，上皮细胞和成纤维细胞	增殖迅速	明显，溶细胞性感染	骶神经节神经细胞	生殖器疱疹（原发或潜伏再激活感染）、新生儿疱疹（围产期感染）
	人疱疹病毒3型（HHV-3）	水痘-带状疱疹病毒（VZV）	较窄，少数人的上皮细胞和成纤维细胞	增殖较缓慢	明显，溶细胞性感染	脊髓后根神经或颅神经感觉神经节	水痘（原发感染）、带状疱疹（潜伏感染再激活）
β	人疱疹病毒5型（HHV-5）	人巨细胞病毒（HCMV）	较窄，白细胞，少数人的上皮细胞和成纤维细胞	增殖缓慢	病变细胞肿胀，核增大，形成巨细胞病变	分泌性腺体，肾脏、白细胞	巨细胞包涵体病（先天性感染）、间质性肺炎（原发及潜伏感染再激活）、巨细胞病毒性肝炎（原发及潜伏感染再激活）、脑炎/脑膜炎（潜伏感染再激活）、输血后单核细胞增多症
	人疱疹病毒6型（HHV-6）	人疱疹病毒6型（HHV-6）	较窄，主要感染淋巴细胞	长期潜伏，增殖性感染时复制周期较长	出现气球样病变	淋巴组织，唾液腺	婴幼儿玫瑰疹
	人疱疹病毒7型（HHV-7）	人疱疹病毒7型（HHV-7）	窄，只感染$CD4^+$T细胞	长期潜伏，增殖性感染时复制周期长	出现气球样病变	唾液腺	婴幼儿玫瑰疹
γ	人疱疹病毒4型（HHV-4）	EB病毒（EBV）	窄，主要感染B细胞	长期潜伏，增殖性感染时复制周期长	罕见明显的细胞病变，能转化B细胞	淋巴组织，B细胞	传染性单核细胞增多症（原发感染）、Burkitt淋巴瘤（原发感染）、鼻咽癌
	人疱疹病毒8型（HHV-8）	卡波济肉瘤相关疱疹病毒（KSHV）	窄，主要感染B细胞	长期潜伏，增殖性感染时复制周期长	很少出现明显的细胞病变，致瘤性?	B细胞，唾液腺？前列腺?	卡波济肉瘤

*参考国际病毒命名委员会疱疹病毒研究小组1992年报告

病毒包膜与细胞膜发生融合，使核衣壳通过细胞质和核膜相连，将HHV基因组释放至核内，引起基因组的转录和翻译。HHV基因组的转录和蛋白质的合成是一种相互协调和相互调控的程序化过程：①即刻早期蛋白（α蛋白），主要是DNA结合蛋白，能反式激活和调节β基因和γ基因的表达，促进早期蛋白和晚期蛋白的合成；②早期蛋白（β蛋白），是转录因子和聚合酶等，参与病毒DNA复制、转录和蛋白质合成。其也是γ基因的反式激活因子，能关闭细胞大分子合成；③晚期蛋白（γ蛋白），在病毒基因组复制后产生，对早期蛋白和即刻早期蛋白有反馈抑制作用。晚期蛋白主要是结构蛋白，已经至少有35种之多，包括7种核衣壳蛋白和十多种包膜糖蛋白。DNA复制和装配在细胞核内进行，核衣壳通过核膜或高尔基体获得包膜。在研究HSV时发现，当病毒DNA进入核内，细胞DNA修复酶将病毒线性DNA环化，环化的DNA基因组潜伏在细胞内，

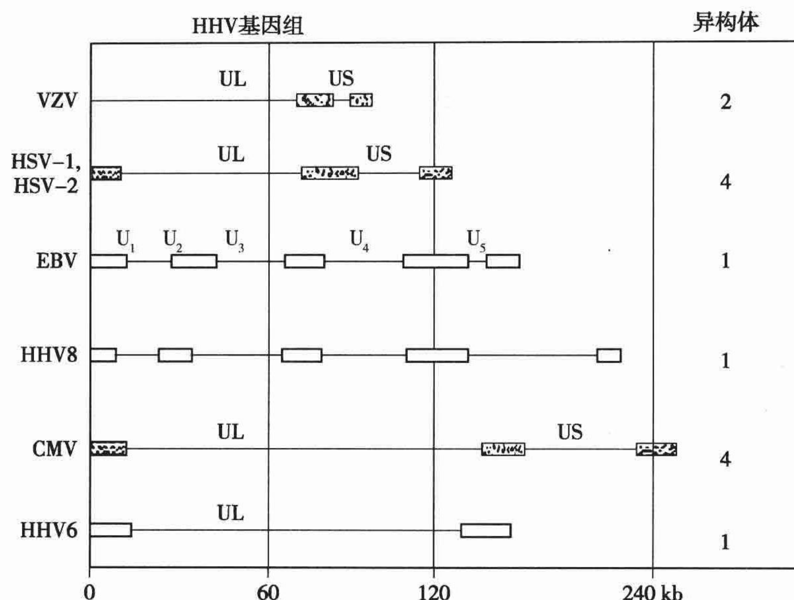


图28-2 疱疹病毒基因组结构示意图

参考Murray PR, *et al*. Medical Microbiology, 5th ed. St Louis: Mosby, 2005

框为重复序列；灰黑色：倒置重复；白色：顺向重复；UL：长独特序列；US：短独特序列；HSV和HCMV有两组倒置序列，可形成4种异构体；VZV有一组倒置重复，可形成两种异构体；EBV、HHV-8和HHV-6仅有顺向重复，故无异构体

仅能产生潜伏相关转录体（latency-associated transcript，LAT），但不能翻译蛋白；在增殖型感染，病毒产生的即刻早期蛋白具有抑制细胞DNA修复酶，使病毒维持线性DNA基因组，进行DNA复制和转录，产生感染性病毒颗粒。

疱疹病毒感染的类型

疱疹病毒在人群中感染广泛，可引起多种临床疾病，其感染类型主要有：①显性感染（apparent infection）：初次感染（或称原发感染）疱疹病毒后，少数人可表现为显性感染，主要见于婴幼儿和无特异性免疫力者。病毒大量增殖并导致细胞破坏，出现临床症状；②潜伏感染（latent infection）：指原发感染（primary infection）后少数病毒不被清除，以非活化状态存留于机体内。病毒不增殖，也不破坏细胞，与宿主细胞处于暂时平衡状态。一旦病毒被激活（reactivation），可转为显性感染，疾病复发。形成潜伏感染是疱疹病毒感染的重要特征之一，不同的疱疹病毒其体内潜伏部位不同，如HSV-1主要潜伏于三叉神经节、HSV-2潜伏于骶神经节，而EBV则主要潜伏于B淋巴细胞内；③整合感染（integration）：病毒基因组的一部分整合于宿主细胞的DNA中，导致细胞转化。这种作用与某些疱疹病毒（如EB病毒）的致癌机制有关；④先天性感染（congenital infection）：某些疱疹病毒（如HCMV、HSV）经胎盘感染胎儿，可引起先天性畸形。

第一节 单纯疱疹病毒

单纯疱疹病毒（herpes simplex virus，HSV）是疱疹病毒的典型代表，属α疱疹病毒亚科，有HSV-1和HSV-2两种血清型。主要特点是宿主范围广，可感染人和多种动物，如家兔、小鼠等。复制增殖周期短，致细胞病变能力强，在感觉神经节中形成潜伏感染。最早发现的人类疱疹病毒就是HSV。19世纪后期利用体外细胞培养分离病毒技术，根据细胞病变特点将痘病毒和疱疹病毒区分开。20世纪初已明确HSV及其所致的疾病，但直到20世纪60年代才发现HSV有两个血清型；本世纪初已完成HSV-1和HSV-2全基因测序工作，对HSV基因组序列、基因产物、病毒复制及基因调控系统有了全新的了解。

一、生物学性状

形态与结构 HSV具有典型的疱疹病毒形态特征，有包膜，病毒体呈球形，直径120～150nm，病毒核酸为线性dsDNA，长约150kb，至少编码70多种蛋白质。其中病毒编码的核糖核苷酸还原酶、胸苷激酶能促进核苷酸的合成；DNA酶则催化病毒DNA复制。病毒酶对基质的特异性催化作用可作为抗病毒药物的靶位（图28-3）。

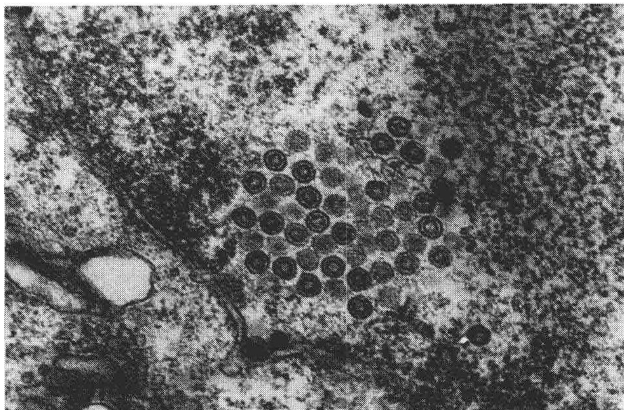


图28-3 单纯疱疹病毒电镜照片（×75000 程志提供）

HSV糖蛋白 HSV包膜糖蛋白至少有11种，在病毒增殖复制和致病过程中发挥重要作用，也是诱导机体免疫应答的主要抗原。目前已发现并正式命名的HSV包膜糖蛋白分别是gB、gC、gD、gE、 gG、gH、gI、gJ、 gL、gK和gM；它们以独立或复合体的形式发挥不同的作用。其中gB、gD和gH是HSV产生有感染性子代所必需的，gB和gD具有吸附和辅助穿入细胞的功能，与病毒的感染有关；gD还是免疫原性最强的中和抗原，可诱导机体产生中和抗体，已用于研制亚单位疫苗；gH有融合入胞和病毒释放的功能。gC、gE和gI为结构糖蛋白，具有免疫逃逸功能。另外，gC为补体C3的受体，gE/gI复合物是IgG Fc的受体，能阻止抗体的抗病毒作用。gG为型特异性糖蛋白，分gG-1和gG-2，以区分HSV-1和HSV-2血清型。

血清型 HSV有两种血清型，即HSV-1和HSV-2，亦称HHV-1和HHV-2。HSV-1常引起人腰部以上黏膜和破损皮肤（如口、眼、唇）以及神经系统感染；HSV-2型则主要引起人腰部以下（如外生殖器）的感染。HSV-1和HSV-2常用gG型特异性单位抗结合试验分型外，还可根据细胞选择性试验、溴乙烯脱氧尿苷（BVDU）抗性实验以及病毒DNA限制性内切酶酶切图谱等进行分型。

培养特性 HSV能在多种细胞中增殖，产生明显的病毒致细胞病变效应（cytopathic effect，CPE）。常用人胚肺、人胚肾细胞、地鼠肾或原代兔肾等细胞分离培养病毒。病毒感染细胞后，多在48小时内出现CPE，表现为细胞肿胀、变圆及融合，并在核内出现嗜酸性包涵体，继之很快脱落、崩解。

HSV对动物的感染范围 宿主范围较广。常用的实验动物有小鼠、豚鼠和家兔等。接种途径不同可产生不同的感染结果，如兔角膜接种引起疱疹性角膜炎，小鼠脑内或腹腔内接种引起疱疹性脑炎，生殖道接种则引起生殖器疱疹。

二、致病性与免疫性

HSV在人群中感染非常普遍。人初次感染HSV后大多无明显临床症状，隐性感染约占80%～90%，显性感染只占少数。传染源为患者和病毒携带者。HSV-1和HSV-2传播途径不尽相同，由此两型病毒感染的临床特点也不同。病毒经黏膜和破损皮肤进入人体，多数细胞表现为溶细胞感染。典型的病理损伤为皮肤黏膜水疱，浆液中充满病毒颗粒和细胞碎片。HSV-1主要通过直接或间接接触传播。病毒感染人的口腔、皮肤黏膜、眼结膜及中枢神经系统，引起龈口炎、唇疱疹、咽炎、角膜结膜炎和疱疹性脑炎；HSV-2通常为性传播，侵犯生殖器及生殖道黏膜，引起生殖器疱疹。病毒亦可经胎盘或产道垂直传播，孕妇生殖道疱疹可于分娩时将病毒传给新生儿。

原发感染 HSV-1原发感染的主要临床表现为皮肤与黏膜局部疱疹，多发生于6个月到2岁的婴幼儿。大约10%～15%的原发感染表现为显性感染。常见为疱疹性龈口炎（gingivostomatitis），在口腔和牙龈黏膜上出现成群疱疹，疱疹破裂后形成溃疡，病灶内含大量病毒。此外，还可引起疱

疹性角膜炎、皮肤疱疹性湿疹或疱疹性脑炎等。HSV-2的原发感染多发生于性生活后，主要引起生殖器疱疹（genital herpes）。属性传播性疾病（STD），原发性生殖器疱疹较严重，表现为皮肤和黏膜水疱性溃疡，有剧痛。原发性生殖器疱疹80%由HSV-2引起，仅少数由HSV-1引起。

潜伏及再激活感染　HSV原发感染后，机体很快产生特异性免疫力，能将大部分病毒清除而使症状消失。但有少数病毒可长期潜伏在神经节中的神经细胞内，不表现临床症状，与机体处于相对平衡状态。HSV-1的潜伏场所是三叉神经节和颈上神经节，而HSV-2潜伏于骶神经节。当机体受到各种非特异性刺激，如发热、寒冷、日晒、月经、情绪紧张，或某些细菌、病毒感染，或使用肾上腺皮质激素等，潜伏的病毒被激活重新增殖，增殖的病毒沿感觉神经纤维轴索下行到末梢支配的上皮细胞内继续增殖，引起复发性局部疱疹。HSV的病毒再激活感染导致疾病复发较常见，感染往往与原发感染是在同一部位。例如，原发疾病是疱疹性角膜炎，复发部位也在角膜。复发性角膜炎病变可导致角膜溃疡、瘢痕，是致盲的主要原因之一。

先天性感染　有宫内、产道以及产后接触感染三种途径，其中产道感染最为常见。孕妇如患有急性期生殖器疱疹，则可在分娩时通过感染的产道感染胎儿，可导致新生儿皮肤、眼和口等暴露部位局部疱疹，重症患儿表现为疱疹性脑炎或播散性感染。妊娠期妇女因原发感染或潜伏的HSV被激活，病毒可通过胎盘或经宫颈逆行感染胎儿，引起流产、早产、死胎或先天性畸形。新生儿产后如接触HSV感染者或外界环境中的感染源也可被感染。

以往认为HSV-2感染与子宫颈癌的发生有关，但HSV与恶性肿瘤的因果关系尚缺乏足够证据。目前一般认为在子宫颈癌的发生中，HSV-2感染可能有协同作用。

在抗HSV感染中，细胞免疫较体液免疫更为重要，细胞免疫涉及CTL、T_H 多种T细胞亚群，以及活化巨噬细胞，NK细胞等潜伏的HSV再激活感染引起疾病复发后，血清中的中和抗体迅速回升，发挥中和抗体对消除游离病毒的作用，阻止病毒在体内扩散，但不能有效阻止病毒向神经组织的移行，对潜伏在神经节细胞内的病毒无中和作用。当以后再次出现刺激因素时，又会引发再激活感染潜伏的病毒终生持续存在。

HSV与基因治疗　利用HSV-1嗜神经细胞并在其中建立潜伏感染的特点，HSV-1可改造为外源基因导入的有效载体，可能应用于中枢神经系统疾病的基因治疗。另外，单纯疱疹病毒胸苷激酶（HSV-TK）基因作为目前研究最多的自杀基因，常用于肿瘤基因治疗研究。

三、微生物学检查法

病毒分离与鉴定　标本常采取水疱液、唾液、角膜拭子或角膜刮取物、阴道拭子和脑脊液等。标本经常规处理后接种于兔肾细胞和人胚肾细胞等易感细胞进行分离培养。病毒增殖很快，一般于2～3天后即可出现CPE，其病变特点为细胞肿胀、变圆，形成融合细胞等，据此可初步判定。再用中和试验、DNA酶切电泳分析及HSV-1和HSV-2的单克隆抗体免疫荧光试验等进一步分型鉴定。

快速诊断　HSV感染的早期诊断对及时抗病毒治疗有重要意义，特别是对疱疹性脑炎和疱疹性角膜炎患者尤为重要。常用免疫荧光技术、免疫酶技术等检查细胞内HSV特异性抗原；亦可用核酸杂交或PCR方法检测标本中有无病毒特异性核酸。

血清学诊断　临床上常用酶联免疫吸附试验（ELISA）和间接免疫荧光法（IFA）检测HSV特异性抗体。特异性IgM抗体阳性提示近期感染，特异性IgG抗体的检测常用于血清流行病学调查。

四、防治原则

目前对HSV感染尚无特异性的预防措施。应注意避免与患者密切接触，切断传播途径。如孕妇产道有HSV-2感染，可进行剖宫产以避免新生儿感染。重症新生儿HSV感染应及早给予有效的抗病毒药物治疗。无环鸟苷（acyclovir，ACV，阿昔洛韦）和丙氧鸟苷（ganciclovir，GCV，更昔洛韦）已局部用于治疗生殖器疱疹和疱疹性角膜炎等，可缩短排毒时间，促进病灶愈合；也可静脉

注药治疗全身性疱疹或疱疹性脑炎，治疗效果均较好，但不能防止潜伏感染的复发。干扰素也可用于疱疹的治疗。

正在研制HSV糖蛋白亚单位疫苗。

第二节 水痘-带状疱疹病毒

水痘-带状疱疹病毒（varicella-zoster virus，VZV）是引起水痘和带状疱疹两种疾病的病原体。在儿童初次感染时引起水痘（varicella），病愈后病毒潜伏在体内，少数人在青春期或成年后潜伏病毒再激活致感染复发引起带状疱疹（zoster），故称为水痘-带状疱疹病毒。

一、生物学性状

VZV即为HHV-3，只有一个血清型。生物学性状大多同HSV相似。包括：①在感觉神经节中形成潜伏感染；②细胞免疫反应在疾病控制中起重要作用；③同样也表达胸苷激酶（TK），对抗病毒药物敏感；④皮肤损伤以水疱为主等。但与HSV不同的是VZV通过呼吸道感染，病毒在局部淋巴组织增殖后，通过全身感染累及皮肤。

VZV在HHV中基因组最小，长约120～130kb，大约编码70种不同的蛋白质。在体外培养的人或猴成纤维细胞或人上皮细胞中增殖，CPE出现较缓慢；观察感染的细胞可见到核内嗜酸性包涵体和形成多核巨细胞。一般实验动物及鸡胚对此病毒不敏感。

二、致病性与免疫性

人是VZV的唯一宿主，皮肤是该病毒的主要靶细胞。VZV传染性极强，传染源主要是患者，水痘患者急性期水疱内容物及上呼吸道分泌物或带状疱疹患者水疱内容物都含有高滴度病毒。儿童普遍易感，在易感人群中发病率可高达90%。

婴幼儿初次感染VZV所致疾病称水痘，好发年龄为3～9岁，多在冬春季流行，病毒主要经呼吸道飞沫传播或接触传播。入侵病毒先在局部（口咽部）淋巴结增殖后，进入血流到达单核吞噬细胞系统内大量增殖，病毒再次入血形成第二次病毒血症，随血流散布到全身，最终定位于皮肤。约经2～3周潜伏期后全身皮肤出现丘疹、水疱，并可发展为脓疱疹。皮疹分布主要呈向心性，以躯干较多，常伴有发热（图28-4）。

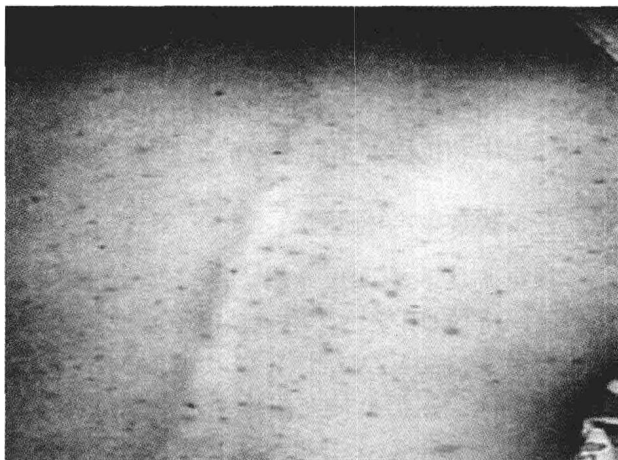


图28-4 水痘患儿背部皮疹照片

儿童患水痘一般病情较轻，是一种良性、自限性疾病，偶发并发症，如病毒性脑炎或肺炎。但在细胞免疫缺陷、白血病或长期使用免疫抑制剂的儿童可表现为重症，甚至危及生命。成人患水痘时一般病情较重，20%～30%并发肺炎，病死率亦高。孕妇患水痘的表现亦较严重，并可引起胎儿畸形，流产或死产。新生儿水痘感染常为播散性，死亡率较高，水痘性脑炎幸存者可留有永久性后遗症。

带状疱疹仅发生于过去有水痘病史的患者，成人和老年人多见，发病率随年龄增大而增高。儿童期患水痘康复后，少量病毒可潜伏于脊髓后根神经节或脑神经的感觉神经节中。以后在机体免疫力下降时，受某些因素（如冷、热、药物、X射线、器官移植等）的刺激，潜伏的病毒被激活，病毒沿神经轴突到达所支配的皮肤细胞内增殖，发生疱疹（图28-5）。

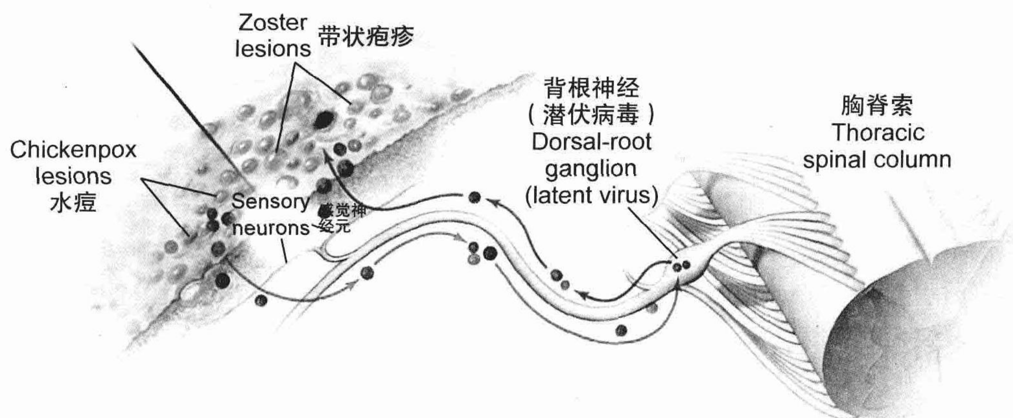


图28-5 VZV在体内的潜伏再扩散途径示意图

因疱疹沿神经分布排列呈带状，故称带状疱疹。带状疱疹常发生在身体的一侧，以躯干中线为界，好发部位为胸、腹部，疼痛剧烈（图28-6）。



图28-6 带状疱疹患者背部皮疹照片

如侵犯三叉神经眼侧支，可波及角膜引起角膜溃疡甚至失明。偶尔也有发生脑炎者。带状疱疹的发病呈散发性，各种年龄的人群均有发生，但以60岁以上的老年人居多，发病后大多都终身不再发生，复发率仅为4%左右。带状疱疹患者的疱疹内容物含有病毒，因而往往成为儿童水痘的传染源。

儿童患水痘后，机体产生持久的特异性细胞免疫和体液免疫，极少再患水痘。但体内产生的病毒中和抗体，不能有效清除神经节中的病毒，故不能阻止带状疱疹的发生。

三、微生物学检查法

根据临床表现即可做出诊断。必要时可取病损皮肤水疱基底部标本、皮肤刮取物、水疱液、活检组织等做HE染色，检查核内嗜酸性包涵体和多核巨细胞等。快速诊断也可用单克隆抗体免疫荧光染色法检测VZV抗原，以及用FAMA、ELISA、间接免疫荧光和微量中和试验检查VZV特异性IgM抗体，这类抗体在皮疹消退后数周便降低到检不出的水平。因此，测出特异性IgM抗体对VZV感染有诊断意义。也可用PCR技术检测标本VZV DNA。电子显微镜可对病毒颗粒进行形态学观察。分离病毒时用人胚成纤维细胞，出现CPE时可用中和试验和免疫学技术对其作出特异性鉴定。

四、防治原则

VZV减毒活疫苗的大量人群接种已成功用于特异性预防，接种人群为1岁以上健康未感染VZV的易感儿童。带状疱疹免疫球蛋白（VZVIg）可给免疫抑制患者注射，对预防或减轻VZV感染有一定效果。

正常儿童患水痘一般不需要抗病毒治疗。抗病毒药物主要用于治疗免疫抑制患儿的水痘，成人水痘和带状疱疹。对VZV有效的抗病毒药物包括阿昔洛韦（ACV）和干扰素等。

第三节 人巨细胞病毒

巨细胞病毒（cytomegalovirus，CMV）属β疱疹病毒亚科，即HHV-5，是巨细胞包涵体病（cytomegalic inclusion disease，CID）的病原体。该病毒在自然界普遍存在，包括人、鼠、马、牛和猪等巨细胞病毒，致人类疾病的为人巨细胞病毒（human cytomegalovirus，HCMV）。HCMV是1956年从一死于CID婴儿的唾液腺中首次分离出来，由于该病毒引起的典型细胞病变为细胞体积明显变大，核内和胞浆内出现包涵体，1960年将该病毒命名为巨细胞病毒。1973年国际病毒命名委员会疱疹病毒研究组将此病毒正式命名为人类疱疹病毒5型（HHV-5）。人群中HCMV感染非常普遍，备受关注的是HCMV是引起先天性畸形的重要病原之一；在机体免疫功能低下时，易发生显性感染；也是免疫抑制患者（如器官移植、肿瘤和AIDS患者等）死亡的重要原因。

一、生物学性状

形态与结构　具有典型的疱疹病毒的形态结构，在包膜与衣壳间有一层均质的被膜（tegument），结构完整的病毒颗粒直径约180～250nm（图28-7）。病毒体最外层是含有多种糖蛋白（如gB，即糖蛋白B）的脂质包膜。HCMV尚存在一些不同于其他疱疹病毒的形态特征。电镜下观察，HCMV感染的细胞可释放出三种类型的病毒颗粒，除上述完整的典型病毒颗粒病毒体外，还有非感染性的致密颗粒及包膜颗粒。致密颗粒大量存在于感染细胞中，无衣壳及病毒DNA，由皮层蛋白pp65构成，外有包膜包绕。非感染性包膜颗粒数量极少，与病毒体的区别在于虽有病毒衣壳及包膜，但无病毒DNA。

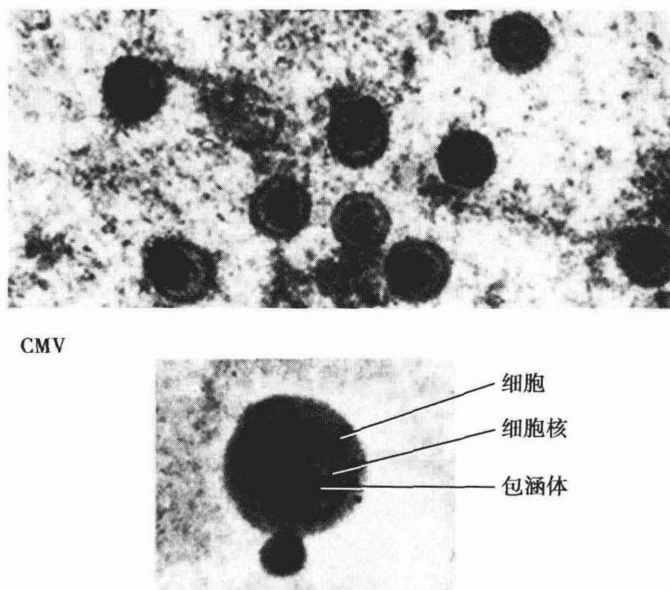


图28-7　巨细胞病毒及其核内包涵体（透射电镜　×400　江丽芳提供）

基因组与表达产物　HCMV基因组在疱疹病毒中容量最大，约为240kb，是一能编码165个基因含量的线性dsDNA分子。早在1990年就已对HCMV AD169株完成了基因组全部测序工作（EMBL基因数据库录入号为 X17403）。与HSV相同，HCMV DNA也由UL和US组成，两片段在相互连接处按不同方向排列、倒置，使DNA形成四种同分异构体。病毒在宿主细胞内复制，并具有明显的时相性，即表达即刻早期抗原（immediate early antigen，IEA）、早期抗原（early antigen，EA）和晚期抗原（late antigen，LA）。IEA是病毒编码的调节蛋白，激活病毒早期基因

和宿主细胞某些基因的表达。EA的主要作用是关闭宿主细胞DNA的复制及合成病毒DNA多聚酶，从而诱导病毒的增殖。IEA和EA均于感染后迅速出现，所以可用相应抗体检测IEA和EA进行快速诊断。LA主要是病毒结构蛋白，表达受IEA和EA的调控。LA可引起中和抗体的应答，病毒感染后出现在细胞膜上的病毒蛋白抗原可被宿主细胞免疫系统识别并最终导致细胞破坏，是清除病毒的关键。

培养特性 HCMV可在人体内感染多种细胞，如成纤维细胞，内皮细胞、上皮细胞及神经细胞等，但在体外仅能在人成纤维细胞中增殖。在培养细胞中病毒复制较慢，通常需7～12天才能出现具有特征性的CPE，其特点是细胞变圆、肿胀、核变大及形成巨大细胞，病毒因此而得名（图28-8）。若此时用HE染色后观察，可见细胞核内出现周围绕有一轮“晕”的大型嗜酸性包涵体（图28-9）。

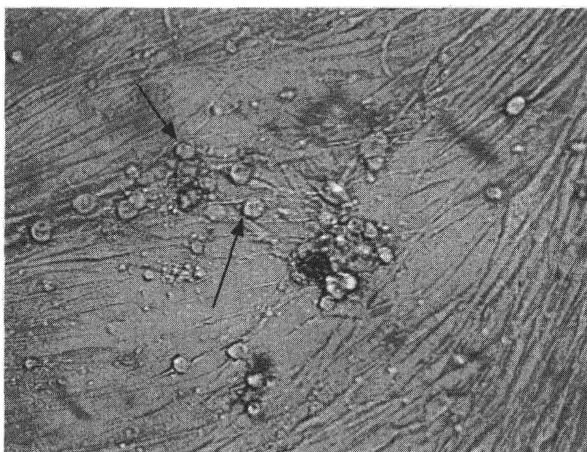


图28-8 HCMV在人胚肺成纤维细胞上的特征性CPE，箭头示明显病变细胞（×200，未染色）

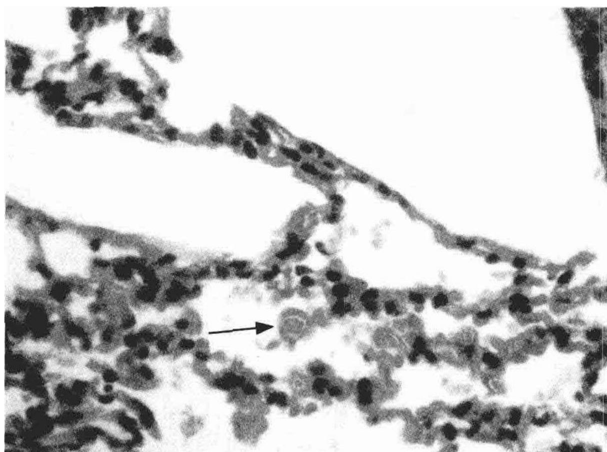


图28-9 人巨细胞病毒感染肺组织病理切片，箭头示典型核内嗜酸性包涵体（×200，HE染色）

HCMV对脂溶剂敏感，加热（56℃ 30分钟），酸性环境，紫外线以及反复冻融等多种理化因素作用下均可使病毒灭活。毒种的保存条件要求高，4℃只能保存数日，－196℃和真空冷冻干燥可长期保存。

二、致病性与免疫性

HCMV在人群中感染率很高，我国成人的HCMV抗体阳性率达90%。原发感染多发生在2岁以下，通常以隐性感染为主，仅少数人有临床症状，在一定条件下，病毒可侵袭多个器官和系统产生严重疾病。感染后大多数人群可长期带毒成为潜伏感染者。潜伏感染的部位主要在唾液腺、乳腺、肾脏及外周血单核细胞和淋巴细胞。潜伏病毒可被再激活导致复发感染。

HCMV感染的主要传染源为患者与无症状带毒者。病毒可持续或间歇地从唾液、乳汁、尿液、宫颈分泌物等处排出。病毒可通过垂直或水平方式进行传播：①母婴传播：可经胎盘传给胎儿（先天性感染），也可经产道或母乳传播（围生期感染）；②接触传播：通过人与人之间的密切接触，如口—口或手—口传播。在幼儿园内幼儿间的HCMV接触传播率较高；③性传播：通过性接触传播；④医源性传播：包括输血或器官移植。

1. 先天性感染 HCMV是最常见的引起先天性感染的病毒。妇女在早孕期（3个月内）有原发感染或潜伏感染再激活时，HCMV可通过胎盘或经宫颈上行感染胎儿，引起宫内感染。先天性感染率约为0.5%～2.5%，其中5%～10%的新生儿出现临床症状，称为巨细胞包涵体病（CID）。CID是HCMV引起急性感染，患儿表现为肝脾肿大、黄疸、血小板减少性紫癜及溶血性贫血；少数呈先天性畸形，如小头畸形、智力低下；重者可致流产或死胎。部分患儿可于出生后数月或数年才出

现临床症状，表现为智力低下和先天性感觉神经性耳聋等。

2. 围生期感染 分娩时新生儿通过感染的产道或从母亲的乳汁中获得病毒。而遭受感染的患儿，一般多无明显临床症状，但从尿和咽分泌物中可不断大量排出病毒，是重要传染源，少数亦可表现为短期的间质性肺炎、肝脾轻度肿大和黄疸，多数患儿预后良好。

3. 出生后感染 HCMV在原发感染后，大多数人长期带毒呈潜伏感染状态，无临床症状。受某些诱因影响，如治疗性免疫抑制等，病毒再激活引起潜伏感染复发。临床表现为单核细胞增多症；少见的并发症有肺炎、肝炎等。感染大多为自限性，但病毒排放持续时间较长。正常人群也可通过输血感染HCMV，输入大量含有HCMV的血液可发生单核细胞增多症和肝炎等，出现发热、疲劳、肌痛、肝功能异常等症状。

4. 免疫缺陷人群的感染 免疫抑制患者（如器官移植、白血病、淋巴瘤和AIDS患者等）是HCMV感染的高危人群，且预后较差。无论原发感染还是体内潜伏的HCMV再激活而导致的复发感染均能引起较严重疾病，常发生全身性感染，如HCMV肺炎、肝炎等，病死率高。大量调查表明，HCMV是导致AIDS患者最常见的机会性感染的病原体之一。

一般认为，HCMV具有致癌潜能，并已在多种人类肿瘤如宫颈瘤、前列腺癌、结肠癌和Kaposi肉瘤等组织中检出HCMV DNA。但目前缺乏直接证据。

HCMV感染后可诱导机体产生相应的体液免疫和细胞免疫。HCMV包膜糖蛋白gB和gD是诱发中和抗体的重要抗原。但体液免疫对于防御HCMV感染仅具有一定的保护作用。因有研究显示，特异性中和抗体不能阻止潜伏病毒的再激活，母亲的特异性抗体不能降低宫内或围生期获得HCMV感染，但可使症状减轻。HCMV原发感染常见于血清抗体阳性的器官移植受者，并且病情往往严重。细胞免疫在限制HCMV播散和潜伏病毒再激活中起重要作用。细胞免疫介导的清除病毒作用主要与$CD8^{+}$ CTL作用有关。细胞免疫功能缺陷者是HCMV感染的高危人群。HCMV感染也可引起机体免疫功能受损或导致免疫抑制。

三、微生物学检查法

细胞学检查 组织标本或尿液标本（离心后取沉渣）涂片，吉姆萨染色或HE染色后镜检，观察巨大细胞及核内嗜酸性包涵体。该方法简便快速，可用于辅助诊断，但检测阳性率不高。

病毒分离 最常用的标本是中段晨尿、血液、咽部或宫颈分泌物，标本接种于人胚肺成纤维细胞，培养4～6周后观察特征性CPE。也可在小玻片上进行2～4天的短期培养后，再用免疫荧光或免疫酶技术检测感染细胞中的病毒抗原，常用于临床实验室诊断。病毒分离阳性是目前临床诊断的“金标准”。

病毒抗原检测 应用特异性单克隆抗体如抗pp65单抗，以ELISA、免疫荧光染色等方法检测标本（如白细胞）中的HCMV早期抗原（如pp65），可以进行快速诊断，具有高敏感性和特异性的优点。如现临床采用的pp65抗原血症检查法是快速诊断的较为可靠方法。

血清学检查 目前常用ELISA法检测血清中的特异性IgG、IgM及IgA。IgG检测可用于了解人群感染率，使用双份血清可用于临床诊断。特异性IgM和IgA抗体的检测可帮助诊断活动性HCMV感染。另外，由于IgM不能从母体经胎盘传给胎儿，若从新生儿血清中检测出HCMV IgM抗体，表明胎儿有宫内感染。

病毒核酸检测采用核酸原位杂交法检测组织切片中的HCMV基因组DNA；也可应用核酸杂交法或定量PCR法检测标本中的病毒DNA。核酸检测的阳性率高，对潜伏感染者也能检出。

四、防治原则

目前尚无安全有效的HCMV疫苗，减毒活疫苗可在高危人群中使用，有一定保护作用，但尚未解决导致潜伏感染和致癌潜能的问题，故尚未在临床应用。研制不含病毒DNA的亚单位疫苗是

目前的研究方向。治疗免疫抑制患者发生的严重HCMV感染可应用抑制病毒DNA多聚酶的更昔洛韦与缬更昔洛韦，这些药物尤其适用于肾移植和骨髓移植患者，以及AIDS患者并发的HCMV感染作预防性治疗。高效价的抗HCMV Ig也有一定的治疗作用。

第四节 EB 病 毒

EB病毒（Epstein-Barr virus，EBV）即HHV-4，属于γ亚科的疱疹病毒。1964年Epstein和Barr等用改良的组织培养技术从非洲儿童恶性淋巴瘤（Burkitt' s lymphoma）细胞培养物中发现的一种新的人类疱疹病毒，电镜下观察该病毒具有同其他疱疹病毒相似的形态结构，但抗原性不同，且具有嗜B淋巴细胞的特性，命名为EBV。1983年，由Barr完成EBV原型株（B95.8株）全基因组序列测定。人类是EBV唯一的天然宿主，与多种疾病相关。EBV是传染性单核细胞增多症的病原体，Burkitt淋巴瘤以及鼻咽癌等恶性肿瘤易发生于感染过EBV的患者，是一种人类重要的肿瘤病毒。

一、生物学性状

形态与结构　EBV的形态结构与其他疱疹病毒相似。完整的病毒颗粒为圆形，直径为180nm，核心含长约173kb的线状dsDNA；衣壳由162个壳粒组成，呈二十面体对称；包膜表面有糖蛋白刺突（图28-10）。与HSV不同的是，EBV基因组较大，有多个重复序列，UL和US无倒置排列，故无异构体。不同病毒株的重复序列数目不同，可用于鉴别。

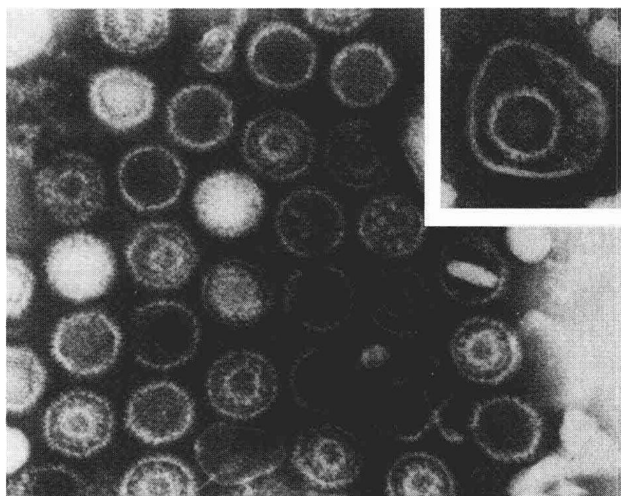


图28-10　EB病毒（透射电镜照片）

EBV在细胞内呈潜伏状态时，基因组由线性变成环状，以环状附加体（episome）的方式游离存在。增殖性感染时，环状的病毒基因组再呈线状DNA，病毒增殖，裂解细胞并释放子代病毒颗粒。

目前尚不能用常规方法体外培养EBV，一般用人脐血淋巴细胞或用含EBV基因组的类淋巴母细胞对EBV进行培养。

依据病毒基因的多态性，人群中流行的EBV可分为两个亚型。在体外细胞培养条件下，1型（A型）病毒转化B淋巴细胞的能力强于2型（B型）病毒。我国以1型病毒流行为主。

特异性抗原　目前已知EBV基因组有84个开放读码框架（ORF），编码产生至少80余种病毒蛋白，其中gp350/gp220为黏附性蛋白，gp85为融合性糖蛋白。EBV为嗜B细胞性病毒，主要感染B细胞，原因之一是B细胞上有病毒受体即CD21分子，病毒的gp350/gp220与受体结合后，导致感染发生。在人体内，病毒还能感染鼻咽部，腮腺管以及宫颈上皮细胞。病毒在不同感染状态下的蛋白表达不同，它们的检出具有临床诊断意义。

1. 增殖性感染时表达的抗原

（1）早期抗原（early antigen，EA）：是病毒的非结构蛋白，分为EA/R和EA/D两类，后者具有EBV特异的DNA多聚酶活性。EA的出现标志着EBV增殖活跃，感染细胞进入裂解周期。EA抗体出现于感染的早期，鼻咽癌患者抗EA-D抗体阳性，非洲儿童恶性淋巴瘤患者抗EA-R抗体阳性。

（2）衣壳抗原（viral capsid antigen，VCA）：为晚期合成的病毒结构蛋白，存在于细胞质和核内。特异性VCA-IgM抗体出现早，消失快；而VCA-IgG出现晚，持续时间长。

（3）膜抗原（membrane antigen，MA）：存在于病毒包膜表面和感染细胞膜表面，其中糖蛋

白gp350/220除能介导EBV吸附于易感细胞表面受体上外，还能诱导生成中和抗体。gp350特异的CTL在控制EBV急性感染中可能起到重要作用，因此gp350/220是EBV亚单位疫苗设计的候选抗原之一。特异性MA-IgM的检出用于早期诊断，而MA-IgG可在体内长期存在。

2. 潜伏感染时表达的抗原　在疱疹病毒科中，EBV的潜伏期表达基因了解的较为清楚。EBV在B记忆细胞中由于受T细胞的免疫监视作用，表现为潜伏感染。在潜伏过程中，感染细胞含有少量环状、质粒样EBV基因组，仅允许病毒的少量部分基因转录，以维持潜伏状态。带有EBV基因组的B细胞，可获得在细胞培养中维持长期生长增殖的能力，称“转化”（transformation）或“永生化”（immortalization）。当细胞分裂时，在细胞DNA聚合酶的作用下，引起EBV部分基因转录，选择性表达EBV潜伏期抗原。主要有以下两类：

（1）EBV核抗原（EB nuclear antigen，EBNA）：在感染的B细胞核内，为DNA结合蛋白。目前已知6种。其中EBNA-1是EBV在各种潜伏感染状态下均有表达的唯一病毒蛋白。主要作用是稳定病毒环状附加体，具有抑制细胞处理和提呈抗原的功能，以维持EBV基因组存在于感染细胞在细胞分裂过程中不被丢失。EBNA-2在永生化过程中起关键作用。EBNA抗体在感染的晚期出现。

（2）潜伏膜蛋白（latent membrane protein，LMP）：表达于B细胞膜上，包括LMP1、LMP2A、LMP2B三种。LMP1类似活化的生长因子受体，是一种致癌蛋白，体外不仅能转化B淋巴细胞，而且能使啮齿动物传代细胞转化并成瘤。LMP1在鼻咽癌等上皮细胞源性肿瘤的形成中起重要作用，有转化细胞、抑制凋亡等多种生物学活性。LMP2A的作用主要在于阻止潜伏感染转变成再激活感染的功能。

二、致病性与免疫性

EBV在人群中的感染非常普遍，我国3岁左右儿童的EBV抗体阳性率高达90%以上。患儿初次感染后多数无明显症状，有的引起轻症咽炎和上呼吸道感染。病毒潜伏于体内，甚至终生带毒。青少年和成人初次感染，可表现为典型的传染性单核细胞增多症。

EBV感染的传染源是患者和隐性感染者，传播途径主要通过唾液感染（例如接吻等），也可以经性接触传播。

EBV感染宿主细胞后的致病机制：EBV经唾液，进入口咽部上皮细胞增殖后，释放的病毒感染局部淋巴组织中的B细胞，B细胞入血导致全身性EBV感染。活化的B细胞分泌特异性免疫球蛋白。EBV也是B细胞有丝分裂原，多克隆激活B细胞，产生异嗜性抗体。被感染的B细胞能刺激T细胞增殖，形成非典型淋巴细胞，主要是细胞毒T细胞和NK细胞，使外周血单核细胞明显增高。非典型淋巴细胞亦具有细胞毒作用，杀伤EBV感染的细胞（图28-11）。

EBV基因表达的IL-10类似物（BCRF-1）能抑制Th1细胞，阻止IFN-γ的释放和T细胞对病毒的免疫应答，但能促进B细胞生长。B细胞的连续增殖和其他协同因子共同作用，可和其他协同因子共同作用下诱发淋巴瘤。另外，在免疫抑制者，EBV感染与肿瘤发生相关。

EBV感染所致的疾病有：

1. 传染性单核细胞增多症（infectious mononucleosis）　是一种急性的全身性淋巴细胞增生性疾病。在青春期初次感染较大量的EBV时发病。潜伏期约为40天，发病后典型的临床表现为发热、咽炎、颈淋巴腺炎、肝脾肿大、血单核细胞和异形淋巴细胞增高。病程可持续数周，预后较好。急性患者口腔黏膜的上皮细胞内出现大量复制增殖的病毒，由唾液排出病毒可持续6个月之久。严重免疫缺陷的儿童，AIDS患者和器官移植者病死率较高。

2. Burkitt淋巴瘤（Burkitt' s lymphoma）　是一种分化程度较低的单克隆B淋巴细胞瘤，发生在中非、新几内亚和南美洲某些温热带地区，呈地方性流行。多见于6岁左右儿童，好发部位为颜面、腭部。血清流行病学调查结果表明，在Burkitt淋巴瘤发生前，儿童已受到EBV感染，所有患者的血清EBV抗体均阳性，且有80%以上的抗体效价高于正常人，在肿瘤组织中发现有EBV基因组，

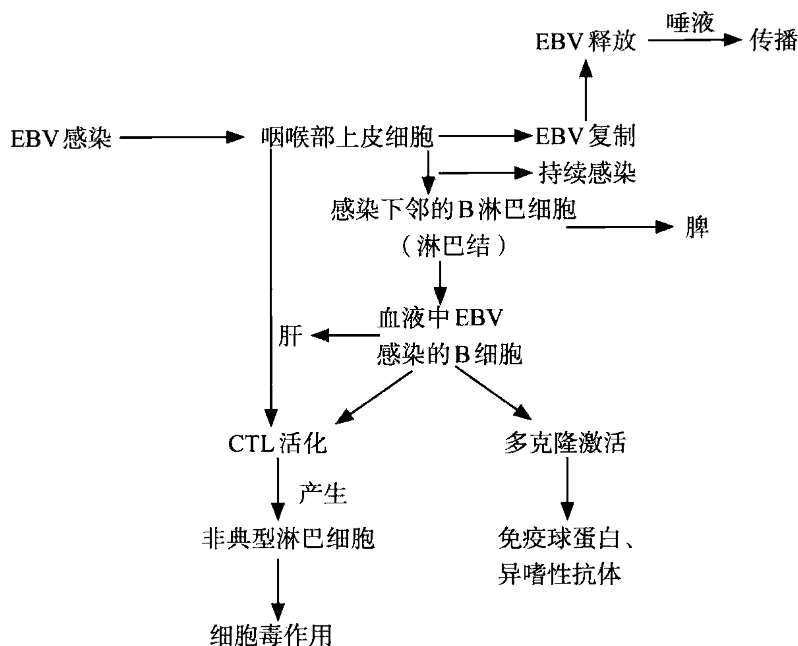


图28-11 EBV感染致病机制示意图

故认为EBV与Burkitt淋巴瘤有密切关系。

3. 鼻咽癌（nasopharyngeal carcinoma，NPC） 主要发生在东南亚、北非和爱斯基摩地区，我国广东、广西、福建、湖南、江西、浙江和台湾等省（区）为高发区，多发生在40岁以上中老年。EBV与NPC的关系十分密切，其主要依据是：①从NPC活检组织中找到了EBV的标志（病毒核酸和病毒抗原）；②NPC患者血清中EBV相关抗原（EA、VCA、MA、EBNA）的抗体效价高于正常人。有些患者在鼻咽黏膜发生病变前已查出这些抗体。NPC仅在某些特定的地区和特定的人群中高发，因此还不能认为EBV是NPC的唯一致病因素。

4. 霍奇金病（Hodgkin' s disease） 是一种恶性淋巴瘤。EBV与50%的霍奇金病有关，在霍奇金病的肿瘤细胞中，含有EBV DNA、EBNA和LMP。

原发感染后，机体产生特异性中和抗体和细胞免疫，首先出现EBV VCA抗体和MA抗体，其后出现EA抗体。随着感染的细胞裂解和疾病的恢复，机体产生EBNA抗体。因此，EBNA抗体出现表示机体已建立细胞免疫，感染得到控制，可防止外源性再感染，但不能完全清除潜伏在细胞内的EBV。在体内潜伏的病毒与宿主保持相对平衡状态，少量的EBV在口咽部继续发生低滴度的增殖性感染，这种持续感染的状态可保持终生。

三、微生物学检查法

1. 病毒的分离培养 采用唾液、咽漱液、外用血细胞和肿瘤组织等作为标本，接种至新鲜的人B细胞或脐血淋巴细胞培养物中，4周后可通过免疫荧光法检查EBV抗原鉴定病毒。

2. 病毒抗原及核酸检测 在标本直接检测抗原或病毒DNA是重要实验手段。可用原位核酸杂交法或PCR检测标本中的EBV DNA，或用免疫荧光法检查细胞中EBV抗原。

3. 血清学诊断 包括特异性与非特异性抗体检测两大类。EBV特异性抗体检测多用免疫酶染色法或免疫荧光法，检测VCA或EA特异性抗体。患者血清中VCA-IgM抗体滴度的显著升高，提示EBV原发性感染的存在；EA-IgA、VCA-IgA抗体滴度持续升高，对鼻咽癌有辅助诊断意义。

异嗜性抗体检测主要用于辅助诊断传染性单核细胞增多症。异嗜性抗体是患者在发病早期，血清中出现一种能非特异性凝集绵羊红细胞的抗体。此抗体滴度在发病3～4周内达高峰，恢复期下降，不久即消失。

四、防治原则

大多数传染性单核细胞增多症患者（约95%）均能恢复，仅少数患者发生脾破裂，据此，应限制患者急性期的剧烈活动。测定EBV EA-IgA、VCA-IgA抗体有利于鼻咽癌的早期诊断。国外试验研制的EBV疫苗，可用以预防传染性单核细胞增多症，并考虑用于非洲儿童恶性淋巴瘤和鼻咽癌的免疫预防。国内构建的基因工程疫苗的免疫保护效果正在观察中。

第五节 新型人类疱疹病毒

一、人疱疹病毒6型

人疱疹病毒6型（human herpes virus 6，HHV-6）是一类对$CD4^{+}$ T淋巴细胞具有亲嗜性的人类疱疹病毒，由美国Salahuddin和Joseph 等于1986年首次从淋巴增生性疾病和AIDS患者外周血单个核细胞中分离到。HHV-6是幼儿玫瑰疹（又称幼儿急疹；roseola，exanthema subitum）的病原体，在免疫低下人群中病毒可被激活导致再感染；此外，还发现某些肿瘤、中枢神经系统疾病等与HHV-6有关。

HHV-6具有典型的疱疹病毒形态特征，基因组与HCMV有60%以上的同源性，和HCMV同属于疱疹病毒β亚科。病毒直径160～200nm，核心为160kb的线性dsDNA；衣壳由162个壳粒构成二十面体立体对称；有包膜，包膜上有刺突状结构；包膜和衣壳之间有比较厚的皮层。

HHV-6有两个亚型，分别为HHV-6A和HHV-6B。两个亚型在生物学性状、抗原性、致病性等方面存在差异，可借助于单克隆抗体、PCR、病毒核酸内切酶图谱以及体外生长特性等加以区别。HHV-6B亚型毒株的感染谱比A亚型广泛，在幼儿玫瑰疹和骨髓移植患者中感染主要为B亚型，在健康儿童中99%原发感染也为B亚型；而在中枢神经系统感染、AIDS及淋巴增生性疾病患者中，A亚型检出率较高。

HHV-6 在人群中的感染十分普遍，血清流行病学研究表明，60%～90%的儿童及成人血清HHV-6抗体阳性。 HHV-6原发感染多见于6个月至2岁的婴幼儿，因来自母体的特异性抗体减少或消失而对HHV-6易感。健康带毒者是婴幼儿原发感染的主要传染源，主要经唾液传播，也可通过输血、器官移植传播。

HHV-6在体内可感染多种细胞，包括淋巴细胞、单核巨噬细胞、内皮细胞和上皮细胞等，但主要的靶细胞为$CD4^{+}$ T淋巴细胞，细胞表面分子CD46是HHV-6感染的协同受体（co-receptor）。原发感染后，HHV-6可长期潜伏于宿主细胞和器官中（如单核巨噬细胞、唾液腺、大脑及肾脏），不引起临床症状。研究提示，唾液腺是HHV-6潜伏和产生病毒的常见场所。

婴幼儿原发感染后大多数无明显临床症状，少数可表现为幼儿玫瑰疹。患儿常突然发病，高热持续3～5天，热退同时于颈部及躯干出现淡红色斑丘疹。HHV-6感染亦可引起无皮疹的幼儿急性发热。一般预后良好，偶尔可引起脑炎、肺炎、肝炎、热性惊厥等并发症。成人HHV-6的原发感染罕见，但如发生，则可引起严重的临床症状。

在免疫功能低下的患者，体内潜伏的HHV-6可被再激活而发展为持续的急性感染。HHV-6是器官移植者感染合并症最为重要的病毒之一，常导致肺炎、肝炎、脑炎等危及患者生命并可导致移植物被排斥。

HHV-6感染的诊断主要依据实验室的病毒学、血清学和分子生物学检测。从临床标本中分离到HHV-6可以确诊。将标本接种于经植物血凝素（PHA）激活的新生儿脐带血单个核细胞进行病毒的分离培养。病毒生长缓慢，一般在感染后3～5天出现CPE，其特点是细胞呈现空泡样变、肿胀、折光性强，有时可形成多核巨细胞，最终导致溶细胞改变。快速诊断可通过间接免疫荧光试验检测HHV-6抗原。也可用定量PCR技术诊断HHV-6活动性感染。流行病学研究主要检测HHV-6 IgG 抗体。

迄今为止，尚无有效疫苗用于特异性预防。

二、人疱疹病毒7型

人疱疹病毒7型（human herpes virus 7，HHV-7）是1990年由Frenkel等从一健康成人外周血的$CD4^+$ T细胞中分离到，是继HHV-6之后发现的又一新型嗜$CD4^+$T细胞的β疱疹病毒。

HHV-7电镜下形态结构与HHV-6相似，与HHV-6的基因组同源性为50%～60%。与HHV-6相比，HHV-7的宿主范围更窄，体外培养时，仅在PHA刺激的人脐血淋巴细胞和HupT1细胞株（取自儿童T1淋巴细胞瘤）中增殖。

流行病学调查发现，与HHV-6相似，HHV-7在人群中感染普遍存在，初次感染多发生在1岁左右，健康成人的HHV-7抗体阳性率高达90%以上。HHV-7以潜伏状态长期存在于人体，主要潜伏部位是PBMC和唾液腺。唾液传播是HHV-7的主要传播途径。

目前有关HHV-7原发感染与疾病的关系尚有争议。有学者认为HHV-7感染可能与幼儿玫瑰疹、神经损害和组织器官移植并发症有关系，但这些疾病究竟是HHV-7原发感染引起，还是HHV-7激活HHV-6所致，尚不清楚。

HHV-7的确诊可采用病毒分离法，病毒鉴定可用核酸杂交、定量PCR、限制性内切酶图谱分析等。血清学诊断主要采用免疫荧光、免疫印迹等方法。目前尚无有效的预防和治疗措施。

三、人疱疹病毒8型

人疱疹病毒8型（human herpes virus 8，HHV-8）是1994年由Yuan Chang及Patrick Moore等从AIDS患者卡波济肉瘤（Kaposi' s sarcoma，KS）组织中首次发现的，因此又名卡波济肉瘤相关疱疹病毒（Kaposi' s sarcoma-associated herpesvirus，KSHV）。目前认为，HHV-8是KS的致病因子，此外与原发性渗出性淋巴瘤（primary effusion lymphoma，PEL）和多中心卡斯特莱曼病（multicentric castleman' s disease， MCD）等肿瘤相关。

HHV-8 DNA序列与EBV基因组有很高的同源性，故同属γ疱疹病毒亚科。病毒颗粒直径150～200nm， 基因组DNA长约137kb，除编码产生病毒结构蛋白和代谢相关蛋白质外，尚能编码产生一系列细胞因子和细胞受体的类似物，与病毒的致癌机制有关。

HHV-8的传播途径尚未明确，在美国和北欧的AIDS患者中，性传播可能是其重要的传播途径，另外也可能与唾液传播，器官移植及输血传播有关。黏膜可认为是病毒的入侵门户。正常人中大约有1%～4%的人感染过HHV-8。

与其他疱疹病毒类似，HHV-8可建立体内潜伏感染，潜伏部位主要是B淋巴细胞，可能在宿主免疫抑制时进入皮肤真皮层血管或淋巴管内皮细胞，形成病变。HIV感染可通过释放相关细胞因子激活体内潜伏的HHV-8。

目前认为HHV-8与KS的发生相关。KS是一种混合细胞型的血管性肿瘤，常见于AIDS患者，多发生于皮肤，也有发生于消化道和内脏，但常造成致命后果。近年KS作为AIDS的晚期并发症有发病增加趋势。在各种类型的KS中（如HIV相关型KS、器官移植后免疫抑制KS、经典性和非经典性KS）HHV-8 DNA的检出率都很高，3年内KS的发病率比阴性者高5倍，呈现高度相关。

目前对HHV-8感染的诊断可用PCR加DNA杂交方法检测病毒DNA；血清学检测方法有Western blot、间接免疫荧光（IFA）和ELISA。检测抗体主要有两种，一种是针对HHV-8潜伏相关的核抗原（latency-associated nuclear antigen，LANA），另一种是针对HHV-8活动期表达的抗原（lytic phase antigens，LPA）。 HHV-8抗体水平可反映病毒在人群的感染情况。

目前尚无有效预防和治疗措施。

展 望

人类疱疹病毒在人群中感染非常普遍，且大多数为隐性感染，仅对少数易感人群感染才会造成严重危害。这组病毒最重要的生物学特征是潜伏状态的建立和维持。在这种状态下，病毒可以周期性的再激活并且进行有效地复制增殖。目前广泛接受的传播方式主要是潜伏—感染—再潜伏模式。当机体免疫功能降低且恰值体内病毒数量积累到一定阈值时，就会对机体造成终末器官损害而出现明显临床症状。因此，疱疹病毒尤其是HCMV是以机会感染为重要表现特征的病毒，人群感染后主要对年幼和年老这两个年龄段人群及免疫缺陷或免疫抑制人群造成较严重危害。

由于人类疱疹病毒结构复杂，发病机制尤其是潜伏再激活的机制尚不清楚，因此，重视和加强对病毒基因组的研究将有助于发病机制的阐明，可为病毒感染的预防和治疗提供合理的依据。

近年来，随着对先天性感染诊疗技术上的进步和对儿童感觉神经性耳聋致残的预防意识的提高，先天性人巨细胞病毒感染是引起婴幼儿感觉神经性耳聋的主要病原，这一重要发现已受到关注。在美国、加拿大及欧洲多个国家对数以千计的新生儿人巨细胞病毒感染调查发现，大约每1000人中就有3～12人是先天性人巨细胞病毒感染者。先天性人巨细胞病毒感染能够引起认知性脑病、运动神经和听视力缺损，甚至流产和死胎等，而感觉神经性耳聋是先天性人巨细胞病毒感染最常见的后遗症。美国国家科学院早在2001年就提出优先研制预防先天性人巨细胞病毒感染的疫苗计划。

由于预防接种Towne株减毒活疫苗对人巨细胞病毒原发感染没有保护作用且存在不安全因素，现在国内外优先研制的是HCMV重组疫苗，如gB重组疫苗。近期由Pass及其同事研制的gB/MF59疫苗正在进行Ⅱ期临床试验，该苗采用新型佐剂59，与传统佐剂明矾相比极大地提高了抗体的效价，而且免疫接种的时间也优化为0、1和6个月三次接种。这种疫苗在血清阴性的幼儿中会产生高效价的中和抗体，同时也能提高血清阳性个体的中和抗体效价。对照研究在产后血清阴性的妇女中进行，以确定母亲感染的发生率，以及病毒血症时的病毒载量的降低及持续时间缩短等，该研究在肾和肝脏移植的志愿者中也在进行测试，期望能通过大面积接种疫苗来减少感染个体的数量以达到降低原发感染和再激活感染的发生率。

新型疱疹病毒6型、7型和8型的发现对临床相关疾病的发病机制、诊断和治疗的研究均有重大意义。但确定这些病毒与临床疾病的病因关系仍有许多工作要做。

（王明丽）

第二十九章　人乳头瘤病毒

人乳头瘤病毒（HPV）是一类无包膜的小DNA病毒，属于乳多空病毒科。病毒体呈球形，基因组为一双链环状DNA，衣壳二十面体立体对称，无包膜。HPV主要的传播方式是直接接触感染者的病损部位或间接接触被病毒污染的物品。生殖道感染主要由性接触传播。嗜黏膜性HPV主要侵犯黏膜，其中HPV 6型和HPV 11型可引起生殖道尖锐湿疣、口腔及喉的乳头状瘤等良性病变，称为低危型HPV；HPV 16、18以及 HPV 45、58等型别与宫颈癌、肛门癌、口腔癌等恶性肿瘤的发生有关，称为高危型HPV。高危型HPV的早期基因编码蛋白E6和E7可分别与抑癌蛋白P53和Rb结合并使之失活，由此干扰了正常细胞周期、使细胞发生恶性转化。目前已有商业化的HPV病毒样颗粒（VLP）疫苗上市，并且在一些发达国家中进行易感人群的免疫接种。

The human papillomaviruses（HPVs）which belong to papovaviridae are small nonenveloped viruses with double stranded circular DNA and icosahedral capsid. Two of the early genes that encode transforming proteins E6 and E7 are implicated in carcinogenesis. E6 and E7 inactivate tumor suppressing proteins P53 and pRB in human cells，respectively. Inactivation of P53 and RB protein is an important step in the process of cell transformation and tumor formation. HPV is transmitted primarily by skin to skin contact or by genital contact. Condyloma acuminatum（genital wart）is an anogenital benign tumors caused by low-risk HPV types（type 6，11），which is a common sexually transmitted disease. Infection of high-risk HPV types（type 16，18，45，58），together with other co-factors contribute to over 90% of cervical cancers. Commercial vaccine of virus like particles（VLP）has been on the market in some developed countries for the prevention of HPV infection and cervical cancer.

乳头瘤病毒是一类无包膜的小DNA病毒，属于乳多空病毒科（Papovaviridae），与人类致病相关的是人乳头瘤病毒（human papillomavirus，HPV）。HPV主要侵犯人的皮肤和黏膜，导致不同程度的增生性病变。高危型HPV（HPV16、HPV18等）与子宫颈癌等肿瘤发生密切相关；低危型HPV（如HPV6、HPV11等）主要引起生殖器尖锐湿疣。HPV是常见的性传播疾病病原体。

一、生物学性状

HPV呈球形，直径为52～55nm，衣壳20面体立体对称，由72个壳微粒组成，无包膜。病毒基因组为一双链环状DNA，约7.8～8.0kb，其中一条DNA是编码基因的有义链，含有3个基因区：①早期区（early region，ER）：HPV的ER区一般含有6个不同的开放读码框（E1、E2、E4、E5、E6、E7 ORFs），编码的早期蛋白参与病毒DNA复制（E1）、转录调节（E2）和诱导宿主细胞发生转化（E5、E6、E7）；②晚期区（late region，LR）：有两个主要的开放读码框（ORF），编码病毒的主要衣壳蛋白L1和次要衣壳蛋白L2；③上游调控区（URR）：也称长控制区（Long control region，LCR），含有HPV DNA的复制起点和基因表达所必需的调控元件（图29-1）。

HPV的衣壳蛋白L1或L1 + L2具有自我组装的特性。用基因工程技术表达的L1（或L1 + L2）蛋白可在真核细胞中组装成病毒样颗粒（virus-like particle，VLP），VLP不含病毒核酸，其空间构象及免疫原性与天然HPV颗粒相似，可诱发机体产生防御性免疫应答。

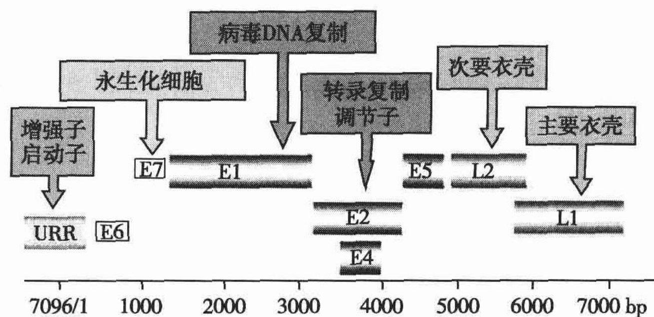


图29-1　HPV基因组结构示意图

根据核苷酸序列进行分型，现已发现HPV有100多个型，大多数的HPV型别已完成全基因组的测序。近年根据HPV的L1基因分型，如果一种HPV的L1 ORF序列与已知型别HPV的相比，其DNA变异大于10%，就可定义为一种新的HPV型别；如果只有2%～10%的DNA变异，则被认为是同一型病毒的两个亚型。

目前HPV尚不能体外培养，这与HPV独特的增殖方式有关。研究发现，HPV的复制增殖与上皮细胞的分化阶段相关。上皮细胞分化过程分为基底细胞层→棘细胞层→颗粒细胞层→角质层。HPV DNA隐藏于基底细胞层，早期基因在棘细胞层开始表达，而晚期基因的表达及病毒体的装配则在颗粒细胞层进行，因此，成熟的病毒体仅在终末分化的上皮细胞中产生（图29-2）。分化成熟的角质层细胞很快脱落，故HPV抗原接触免疫系统的机会较少，这也是导致HPV免疫原性低，易形成持续性感染的重要因素之一。

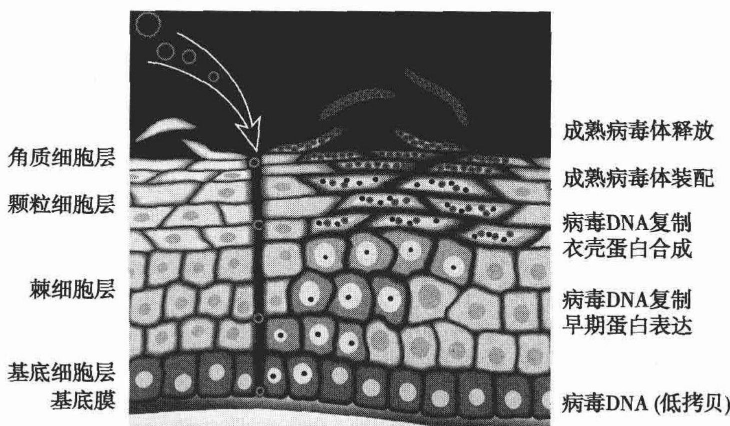


图29-2　HPV的复制增殖与上皮细胞分化

二、致病性与免疫性

HPV具有严格的宿主和组织特异性，只能感染人的皮肤和黏膜上皮细胞。因此，人类是HPV的唯一自然宿主。HPV的传播主要通过直接接触感染者的病损部位或间接接触被病毒污染的物品，生殖道感染主要由性接触传播，新生儿可在通过产道时受感染。

HPV感染后的主要病理改变是引起上皮增生性病变，病毒感染仅停留于局部皮肤和黏膜中，不产生病毒血症，易形成持续性感染。不同型的HPV侵犯的部位和所致疾病也不相同（表29-1），嗜皮肤性HPV主要感染鳞状上皮，常引起青少年、儿童的扁平疣；手足部跖疣等，嗜黏膜性HPV则主要侵犯黏膜，其中HPV6型和HPV11型可引起生殖道尖锐湿疣、口腔及喉的乳头状瘤等良性病变，称为低危型HPV（low-risk HPV types）；而HPV16、18以及HPV45、58等型别与宫颈癌、肛门癌、口腔癌等恶性肿瘤的发生有关，称高危型HPV（high-risk HPV types）。

表29-1 HPV型别与人类疾病的关系

相关人类疾病	HPV型别
皮肤	
跖疣	1、4
寻常疣	2、4、7、29、54
扁平疣	3、10、28、41
屠夫寻常疣	7、40
疣状表皮增生异常	5、8、9、12、14、15、17、19～25、36
黏膜	
尖锐湿疣	6、11
喉乳头瘤、口腔乳头瘤	6、11
宫颈上皮内瘤、宫颈癌	
密切相关	16、18
中度相关	31、33、35、45、51、52、56、58

HPV感染与宫颈癌发生的相关性研究表明，高危型HPV感染尤其是HPV16、18型，与宫颈上皮内瘤变（cervical intraepithelial neoplasia，CIN）和宫颈癌的发生密切相关。分子流行病学调查结果显示90%宫颈癌可检出HPV DNA,其中HPV16 DNA检出率达40%～60%。HPV的致癌机制复杂，目前认为主要与以下方面有关：

1. HPV编码的基因产物E6和E7蛋白降解抑癌蛋白P53和Rb等诱发肿瘤发生　高危型HPV的E7是主要转化蛋白，E7可以与抑癌蛋白Rb结合使Rb失活，由此扰乱细胞周期、细胞发生恶性转化；HPV E6蛋白可通过结合并降解抑癌蛋白P53、激活端粒酶等，使细胞异常增殖进而诱发肿瘤的发生。

2. HPV病毒基因整合于宿主细胞染色体，激活癌基因的表达，诱发细胞恶性病变　HPV DNA可随机整合入宿主细胞染色体，当HPV DNA分子插入到细胞的某些原癌基因（如c-myc）附近时，则有可能激活癌基因的表达，诱发细胞恶性病变。

特异性细胞免疫在控制HPV感染中起重要作用，在器官移植和HIV感染等免疫功能抑制患者HPV感染往往严重；复发性尖锐湿疣患者常伴有细胞免疫功能低下。HPV感染的肿瘤细胞可通过HLA Ⅰ类抗原变异或表达缺失、缺乏B7协同刺激信号等机制逃逸宿主免疫系统的攻击。因此，建立有效的细胞免疫尤其是局部细胞免疫对于清除病毒，消除HPV持续性感染十分重要。

近来发现，HPV16 VLP血清抗体的产生可降低再次感染的危险性。用基因工程技术表达的HPV VLP刺激机体产生特异性中和抗体的作用强，被认为是最有希望的HPV预防性疫苗。HPV经生殖道感染，因此生殖道黏膜局部SIgA抗体的保护作用尤为重要。

三、微生物学检查法

HPV至今尚不能在常规细胞培养中增殖，因而无法进行病毒的分离鉴定。临床上典型乳头瘤或疣比较容易诊断，但亚临床感染或宫颈癌普查时常需要通过组织学、免疫学及核酸的检测来进行微生物学诊断。

1. 组织学检测　收集脱落细胞，进行涂片、H-E染色后镜检，提示有HPV感染的特征性组织学改变是：皮肤、黏膜表层过度角化崩解、基底层肥大及生成凹空细胞。

2. 免疫学检测　采用免疫组化法可检测病变组织中的HPV抗原，运用免疫电镜检查HPV病毒颗粒可提高检出率。

3. 核酸检测　采用核酸杂交或PCR方法可对HPV感染进行早期诊断及型别鉴定，核酸杂交常用Southern杂交及斑点杂交，PCR法不但可检测新鲜标本，还可用于石蜡切片中HPV DNA的检测进行回顾性研究。

四、防治原则

HPV可引起性传播性疾病，加强性安全教育和社会管理，对控制HPV感染、减少生殖器疣及宫颈癌发生有重要意义。采用疫苗接种进行病因预防是预防HPV感染的理想措施。比较有前途的预防性疫苗是HPV病毒样颗粒（VLP）疫苗。

对尖锐湿疣主要采用局部治疗方法：①用激光、冷冻、电灼或手术等方法除去疣体；②局部涂药，如5%咪喹莫特（Imiquimod）或5% 5-氟尿嘧啶（5-FU）。这些方法可去除局部病灶，但根除周围正常组织中的病毒比较困难，因此常有复发。对复发者可连续治疗或综合治疗，咪喹莫特作为局部免疫调节剂有降低尖锐湿疣复发率的疗效。

展　　望

1978年德国科学家哈拉尔德·楚尔·豪森（Harald zur Hausen）发现人乳头瘤病毒与宫颈癌的发生有关，此后，科学家们研究了人乳头状瘤病毒诱发宫颈癌的机制，在此基础上研发出第一个癌症疫苗，即宫颈癌疫苗，为很多人提供了免疫保护，也为人类攻克其他癌症提供借鉴。哈拉尔德·楚尔·豪森（Harald zur Hausen）因此获得2008年度诺贝尔生理学或医学奖。

近年来的研究表明，单靠遗传学分析很难解释涉及多因素、多阶段的恶性肿瘤的发生，复杂的基因间和蛋白质间的相互作用、细胞内活动和环境因素都会影响基因的表达和蛋白质的翻译后加工，表观遗传学的研究无疑为医学领域带来一场革命，实验证明，当组蛋白修饰酶表达异常使组蛋白修饰失衡时，染色体重组异常，可导致癌症发生。人乳头瘤病毒感染致染色体重塑与肿瘤发生的相关性值得关注。

HPV疫苗可分为预防性和治疗性疫苗两大类。HPV预防性疫苗的目的是刺激机体产生特异性中和抗体，保护健康接种人群降低肿瘤的发生率，预防性疫苗的最佳靶抗原是衣壳蛋白L1和L2，比较有前途的疫苗是HPV VLP疫苗。HPV治疗性疫苗的目的是激发细胞介导的免疫反应，以帮助宿主清除细胞内已经感染的病毒，控制肿瘤的进展。由于发现HPV转化蛋白E6和E7可在肿瘤细胞表面持续表达，因此可以基于E6、E7为靶点设计HPV治疗性疫苗。HPV疫苗领域仍有许多问题亟待解决，如：用于检测疫苗免疫效果的动物模型的确立；高效HPV免疫表位的确定；多价HPV疫苗的研制；免疫人群的选择及免疫效果的确定等。

（贾继辉）

第三十章 逆转录病毒

逆转录病毒科是一组含逆转录酶的RNA病毒，球形，有包膜，表面有糖蛋白突起，基因组为两条相同的单链正链RNA，有*gag*、*pol*和*env*等3个结构基因以及数量不等的调节基因。逆转录病毒的复制需经逆转录、整合过程，整合于宿主细胞染色体的病毒DNA称为前病毒。逆转录病毒共分7个属，只有慢病毒属杀细胞，其余均为非杀细胞性病毒。对人致病的主要是人类免疫缺陷病毒和人类嗜T细胞病毒。人类免疫缺陷病毒是获得性免疫缺陷综合征（AIDS）的病原。

The *Retroviridae*, consist of large and diverse RNA viruses in seven genera which generally contain reverse transcriptase. The virion is a spherical structure surrounded by an envelope containing glycoprotein and lipid. The viral genome is a dimer of linear, positive-sense, single-stranded RNA, which contains three structural genes (*gag*, *pol*, *env*) and some regulatory genes. The genome is flanked at each end by the long terminal repeat (LTR) sequence which contains a promoter and an enhancer. These viruses replicate through an extraordinary and unique life cycle. Upon entry into the host cell, the genomic RNA is reverse transcribed into DNA that is integrated into the host chromosomal DNA. The integrated viral genomic DNA is known as provirus.

Among retroviruses, only lentiviruses are cytolytic, while the others are all non-cytolytic. The non-cytolytic retroviruses usually contain oncogenes, and are highly oncogenic. Most of them are defective viruses. Other retroviruses, exemplified by human immunodeficiency virus (HIV) and human T-lymphotropic virus (HTLV), contain a more complex genome, but no oncogenes, and can replicate independently. HIV and HTLV are the major retroviruses that are pathogenic for human beings.

HIV is the etiological agent of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). There are two types of HIV: HIV-1 and HIV-2. HIV, a lentivirus, has the typical biological properties of a retrovirus. The genome of HIV-1 contains three structural genes (*gag*, *pol*, *env*) and six regulatory genes (*tat*, *nef*, *vif*, *rev*, *vpr*, *vpu*). HIV-2 does not have a *vpu* gene, but carries a *vpx* instead. The *gag* encodes core proteins (matrix P17, capsid P24, nucleocapsid P7, and P6). The *pol* encodes protease, integrase, RNase H, and reverse transcriptase (RT). The high error rate of the viral RT reflects the fact that RT synthesizes DNA without reading proof. The *env* encodes the envelope glycoproteins gp41 and gp120. The six regulatory genes regulate viral expression and are important in disease pathogenesis in vivo. HIV uses the CD4 molecule as a receptor to gain entry to the cell. A coreceptor, CCR5 or CXCR4, is required for fusion of the virus with the cell membrane in addition to CD4.

HIV is transmitted through sexual contact, parenteral exposure to contaminated blood or blood products, and mother-to-child transmission during perinatal period. The typical course of untreated HIV infection can be divided into four stages: the primary infection, clinical latency, AIDS-related complex, and AIDS. Viral RNA levels are high in primary infection, tend to drop during clinical latency and increase in advanced disease. Viral RNA is the single most important indication of disease status. HIV disease is characterized by pronounced suppression of the immune system, development of a wide

variety of severe opportunistic infections and cancer. Symptoms include lymphadenopathy, opportunistic infections, neurologic diseases (e.g. AIDS dementia complex), and cancers (e.g. lymphoma, Kaposi's sarcoma). If untreated, death usually occurs when CD4 T cell counts fall below 200. The significant feature of HIV infection is the depletion of CD4 T helper-inducer lymphocytes. The depletion of CD4 T cells is caused by HIV replication in this population of lymphocytes and by the death of uninfected T cells via indirect mechanisms. A small fraction of infected T cells survive and revert to a resting memory state, and provide a long-term, stable latent reservoir for HIV. Monocytes and macrophages serve as another reservoir of HIV in the body. HIV-infected individuals develop both humoral and cellular responses against HIV-related antigens. Both antibody and cellular immunity are thought to play roles in the control of HIV dissemination. But much remains to be learned.

HIV infection can be detected in three ways: plasma HIV RNA, serologic determination of antiviral antibodies, and virus isolation. Enzyme-linked immunoassay (EIA) -based antibody tests are used for screening persons for HIV infection, a positive test in a serum sample must be confirmed by Western blot assay. The only way to avoid epidemic spread of HIV is to maintain a safe lifestyle that minimizes the high-risk factors of HIV transmission. HIV can be completely inactivated by treatment with most disinfectants for 10 minutes at room temperature. Antiviral drugs control HIV by inhibiting the functions of reverse transcriptase and protease, or blocking the fusion of the viral envelope to cellular membrane. Combination therapy targeting different steps in virus replication is widely used in antiretroviral therapy because it is more effective and because it avoids the emergence of drug-resistant mutants of HIV. Though combination antiretroviral therapy has proved to be effective, it has failed to cure HIV infection. Many candidate vaccines are under development and testing.

Human T-lymphotropic viruses (HTLV) are classified as *Deltaretroviruses* based on the morphology and genomic structure. The genome of HTLV contains three structural genes (*gag*, *pol*, *env*) and two regulatory genes (*tax*, *rex*). No oncogene can be found in HTLV genome. There are two glycoproteins on the surface of the envelope. The CD4 molecule is used as the receptor for HTLV infection. HTLV is transmitted by sexual contact, blood exposure, and mother-to-infant transmission. HTLV-1 is endemic in human populations, causes adult T cell leukemia-lymphoma (ATL) and HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). Laboratory diagnosis depends on serologic test and nucleic acid detection. No effective chemotherapeutic agents are available presently.

逆转录病毒科（*Retroviridae*）是一组含逆转录酶（reverse transcriptase，RT）的RNA病毒，共分7个属（genera）（表30-1），对人致病的主要是人类免疫缺陷病毒和人类嗜T细胞病毒。

逆转录病毒见于几乎各种脊椎动物，多数仅感染单一种属动物，虽然也有跨种属的自然感染。来源同种属宿主的逆转录病毒，其核心蛋白有组特异性（group-specific）抗原决定簇。逆转录病毒的重要生物学性状见表30-2。

形态与结构　逆转录病毒大小约100nm，球形，内部为螺旋对称的核糖核蛋白，外侧为二十面体立体对称的衣壳蛋白，有包膜，表面有糖蛋白突起。

病毒核心含两条相同的单链正链RNA，长约5～11kb，在5′端通过部分碱基互补联结，构成线性二倍体。各逆转录病毒基因组组成相似，均有序列及功能相似的3个结构基因（*gag*、*pol*、*env*），顺序均为5′-*gag*-*pol*-*env*-3′，其中*gag*编码核心蛋白（组特异性抗原），*pol*编码逆转录酶和蛋白酶，*env*编码包膜上的糖蛋白突起（型或亚型特异性抗原）。逆转录病毒还有数量不等的调节基因（regulatory gene），编码一些非结构蛋白，改变病毒的基因转录和表达。α、β、γ逆转录病毒属基因组简单，仅有结构基因，而δ、ε逆转录病毒属、慢病毒属和泡沫病毒属除结构基因外，还有数量不等的调节基因。慢病毒属调节基因数量较多。

表30-1 逆转录病毒的分类

属	代表病毒
α逆转录病毒属（*Alpharetrovirus*）	Rous肉瘤病毒（Rous sarcoma virus，RSV）
β逆转录病毒属（*Betaretrovirus*）	鼠乳腺肿瘤病毒（mouse mammary tumor virus，MMTV）
γ逆转录病毒属（*Gammaretrovirus*）	Abelson鼠白血病病毒（Abelson murine leukemia virus，Ab-MLV）、Moloney鼠肉瘤病毒（Moloney murine sarcoma virus，Mo-MSV）
δ逆转录病毒属（*Deltaretrovirus*）	人类嗜T淋巴细胞病毒（human T-lymphotropic virus，HTLV）、牛白血病病毒（bovine leukemia virus，BLV）
ε逆转录病毒属（*Epsilonretrovirus*）	大眼狮鲇皮肤肉瘤病毒（walleye dermal sarcoma virus，WDSW）
慢病毒属（*Lentivirus*）	人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus，HIV）、猴免疫缺陷病毒（simian immunodeficiency virus， SIV）、马传染性贫血病毒（equine infectious anemia virus，EIAV）
泡沫病毒属（*Spumavirus*）	牛、马、人泡沫病毒（foamy virus）

表30-2 逆转录病毒的重要生物学特性

结构与性状	特 点
病毒颗粒	球形，直径80～110nm，核蛋白螺旋排列，衣壳呈二十面体立体对称
化学组成	RNA（1%）、蛋白（约65%）、脂类（约30%）、碳水化合物（约4%）
基因组	+ssRNA，长约5 ～11kb，二倍体。有些是缺陷病毒，有些携带癌基因
蛋白	病毒体内有逆转录酶
包膜	有
复制	逆转录酶以病毒RNA基因组为模板复制DNA拷贝，DNA拷贝整合进细胞染色体，构成前病毒，前病毒成为子代病毒复制的模板
成熟释放	病毒从细胞膜出芽释放
感染特性	①不杀死感染细胞，慢病毒除外；②前病毒永久潜伏在细胞内；③可激活细胞基因的表达，包括细胞癌基因；④许多都是肿瘤病毒

复制　逆转录病毒的复制要经过一个独特的逆转录过程，病毒基因组RNA先逆转录成双链DNA，然后整合到细胞染色体DNA中（图30-1）。

*pol*编码逆转录酶、蛋白酶、RNA酶H（RNase H）以及整合酶。病毒吸附、穿入后，病毒RNA进入到细胞内，逆转录酶以RNA为模板合成DNA。经过一个复杂的过程，病毒RNA转录为DNA后，末端的U5、U3交换连接到DNA相对的末端上，构成长末端重复序列（long terminal repeat，LTR）（图30-2），LTR只出现在病毒DNA中。

新合成的病毒DNA整合到宿主细胞染色体，此时称为前病毒（provirus）。前病毒的结构保持稳定，但整合位点可以不同，由LTR的末端特定的序列负责。子代病毒基因组由前病毒转录而来，LTR的U3序列含有启动子（promoter）和增强子（enhancer），转录由细胞的RNA聚合酶Ⅱ负责，前病毒如同细胞的一组基因，其表达受到细胞基因组的调控，前病毒的整合位置以及有无细胞转录因子的参与，很大程度决定病毒基因能否激活表达。

完整的全长转录子将作为病毒基因组装配到子代病毒。另一些转录子被拼切后作为mRNA用于翻译前体蛋白，前体蛋白经过酶切、修饰后成为病毒蛋白。子代病毒以出芽方式释放，病毒蛋白酶切割GAG和POL聚合前体蛋白，最终形成具有感染性的子代病毒，准备下一次感染。

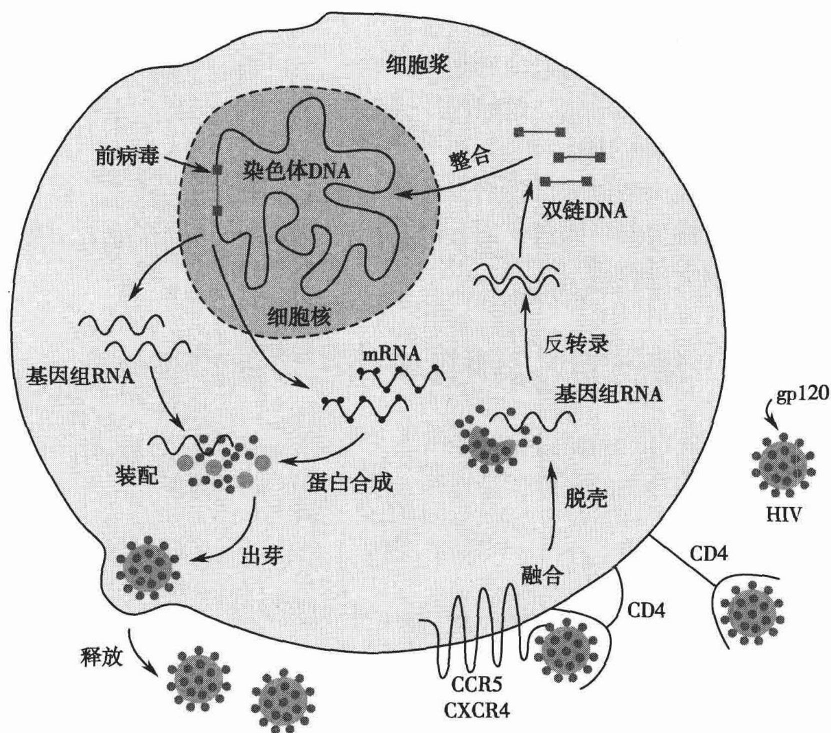


图30-1 人类免疫缺陷病毒的复制过程

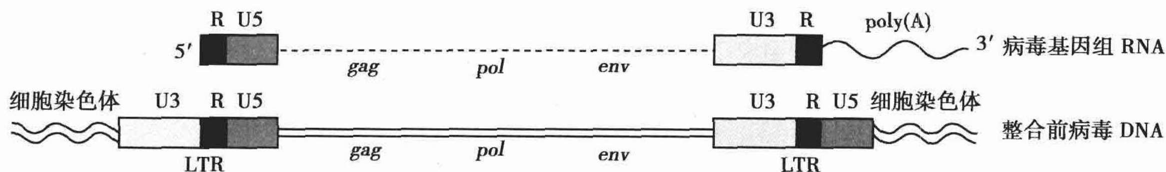


图30-2 逆转录病毒LTR结构

宿主与传播 逆转录病毒宿主范围取决于细胞表面有否合适受体。根据宿主范围，逆转录病毒可分为：①亲嗜性（ecotropic）病毒：只感染同种属细胞，引起产毒性感染；②兼嗜性（amphotropic）病毒：能在异种细胞发生产毒性感染，原因是它识别的受体分布广泛；③异嗜性（xenotropic）病毒：只能在异种细胞发生产毒性感染，而在其原始宿主细胞中仅以前病毒方式存在。

根据传播方式，逆转录病毒可分为内源性（exogenous）病毒和外源性（endogenous）病毒两类。内源性病毒为异嗜性病毒，通过垂直传播，存在于宿主的所有生殖细胞和体细胞中，病毒DNA成为宿主的恒定基因组成部分，许多脊椎动物，包括人类，都有内源性RNA病毒序列的多个拷贝。内源性病毒的整合状态由宿主细胞遗传物质控制，内部或外部（化学物质）因素均可诱导内源性病毒的复制。内源性病毒对于宿主通常不致病，也不致培养细胞的转化。外源性病毒通过水平传播，仅存在于感染细胞中，致病性逆转录病毒均为外源性。外源性病毒也经常在细胞内长期潜伏。

感染与致癌 在逆转录病毒中，只有慢病毒属杀细胞，其余均为非杀细胞性病毒。非杀细胞性的致病逆转录病毒主要引起肿瘤。

一些逆转录病毒具有完整的逆转录病毒基因结构，可独立复制，如HIV、HTLV和MMTV，这类逆转录病毒基因组不含癌基因（oncogene）。但另有一些逆转录病毒基因组中含有癌基因，例如，RSV含*src*，Mo-MSV含*mos*，Ab-MLV含*abl*，这类病毒都是缺陷病毒（RSV例外）。病毒癌基因来源于宿主细胞，位于细胞上的这段基因称为原癌基因（proto-oncogene），该基因被激活和表达可导

致细胞的转化。在漫长的生物进化过程中，病毒以某种方式俘获了该基因，并整合到了它们的基因中，即为癌基因。含有癌基因的逆转录病毒均有高度致癌性，在体内只要经过很短潜伏期就能引起肿瘤，在体外也能迅速引起细胞形态转化，致瘤的原因是癌基因被激活和高水平表达，原癌基因在细胞内通常处于精确控制，仅低水平表达。

不带癌基因的逆转录病毒致癌的能力低很多，体外不造成培养细胞的转化，但在体内可能具有转化血液干细胞的能力，一般需要很长的潜伏期，机制是病毒的一个启动子或者增强子被插入到细胞原癌基因附近，导致该基因大量表达。

第一节 人类免疫缺陷病毒

人类免疫缺陷病毒（human immunodeficiency virus，HIV）是获得性免疫缺陷综合征（acquired immunodeficiency syndrome，AIDS）的病原，是逆转录病毒科慢病毒属成员。

一、生物学性状

结构与组成 结构与组成球形，直径100 ~ 120nm，有包膜，表面有糖蛋白刺突，每个刺突由gp120和gp41的三聚体构成。包膜内有由p17组成的内膜（matrix）。核心包括两条相同的+ssRNA、逆转录酶、整合酶、蛋白酶和RNA酶H。包裹其外的是p24组成的衣壳，核心和p24衣壳共同构成圆柱状核衣壳（图30-3）。

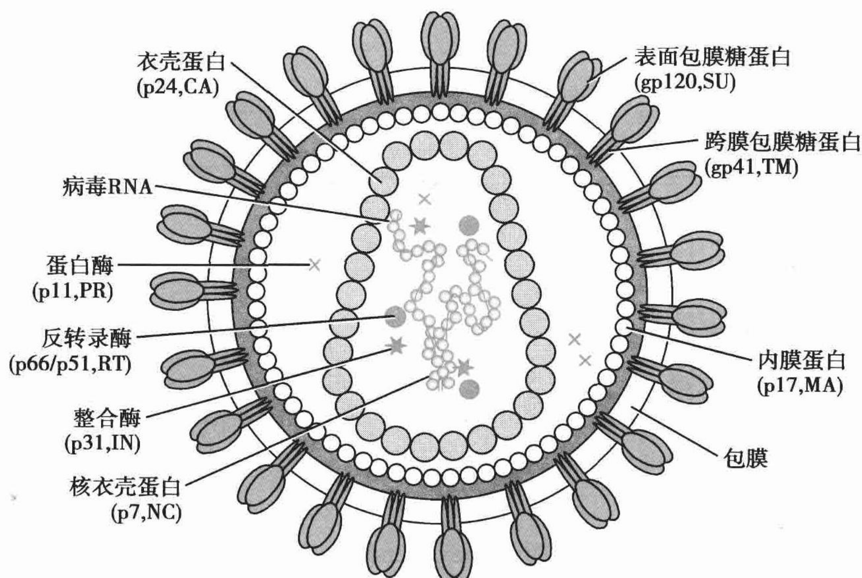


图30-3 人类免疫缺陷病毒的结构示意图

HIV基因组RNA长约9.2kb，前病毒DNA外侧附加LTR序列，长9.8kb，HIV基因结构比其他逆转录病毒复杂，含有3个结构基因（*gag*、*pol*、*env*）和6个调节基因（*tat*、*nef*、*vif*、*rev*、*vpr*、*vpu*）（图30-4），HIV-2没有*vpu*，取而代之的是*vpx*基因。*gag*、*pol*、*env*、*vpr*、*vpu*、*vif*等编码的mRNA需要REV蛋白帮助胞质定位和表达，为晚期基因，而*tat*、*rev*、*nef*等的表达不依赖于REV蛋白，为早期基因。HIV未发现癌基因序列。

HIV的结构蛋白均由前体蛋白切割而来：①*gag*编码相对分子质量约为55×10^3的GAG蛋白P55，故*gag*也称为*p55*基因。P55由全长mRNA翻译，合成后与细胞膜相连，募集2个基因组RNA分子和其他蛋白形成芽（bud），然后被病毒编码的蛋白酶4（protease 4）裂解成内膜蛋白P17（matrix，MA）、衣壳蛋白P24（capsid，CA）、核衣壳蛋白P7（nucleocapsid，NC）、P6四个成熟结构蛋白；

②*pol*编码POL蛋白。通常由全长mRNA翻译合成GAG-POL前体蛋白（P160），病毒成熟时由病毒蛋白酶从GAG-POL切下POL多肽，再进一步切割为蛋白酶P11（protease，PR）、整合酶P32（integrase，IN）、RNA酶H（P15）和逆转录酶P51。由于裂解不彻底，约有50%的RT蛋白和RNA酶H仍连在一起，形成P66，称为P66/p51，具有双酶的活性。RT的酶活性包括依赖RNA的DNA聚合酶（即逆转录酶）和依赖DNA的DNA聚合酶活性。RT不具备校正功能（reading-proof），转录时错配发生率高。蛋白酶P11为天冬酰蛋白酶（aspartyl protease），以二聚体形式存在，负责裂解GAG和GAG-POL聚合蛋白，是HIV复制必不可少的关键酶。整合酶P32帮助HIV前病毒DNA插入感染细胞的基因组，整合酶具有DNA外切酶、双链内切酶、连接酶等3个酶活性；③*env*编码的160 kDa糖蛋白（gp160），在内质网合成后转移至高尔基体并糖基化，再由宿主细胞的蛋白酶将其裂解为gp41和gp120。gp41为跨膜糖蛋白（TM），gp120为包膜表面刺突糖蛋白（SU），gp41、gp120聚合为三聚体，以非共价键相连，形成感染细胞膜和病毒包膜表面的刺突。

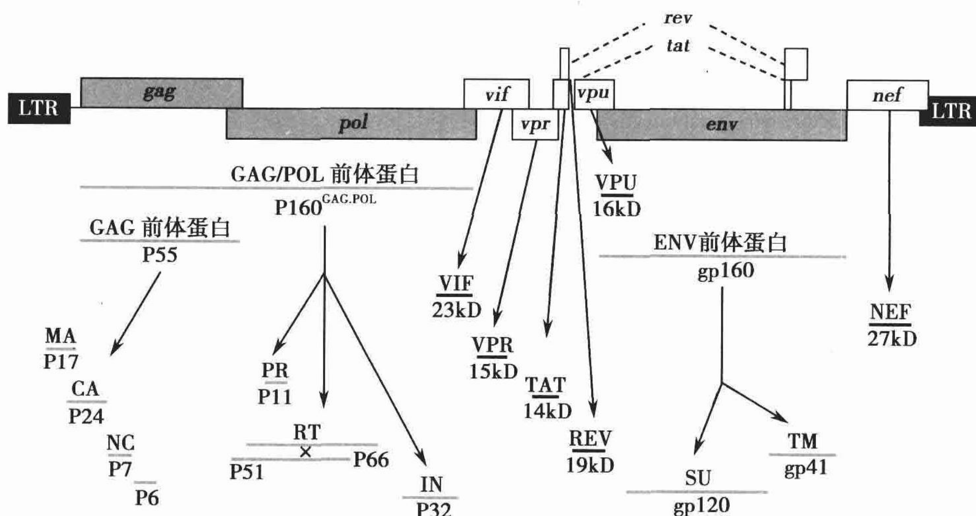


图30-4　HIV的基因组结构及其编码蛋白

6个调节基因控制着病毒基因表达，并在致病上具有重要作用：①*tat*编码TAT蛋白（P14），是RNA结合蛋白，是HIV复制必需的反式激活转录因子，与LTR结合后其转录启动效率提高至少1000倍；②*rev*编码REV蛋白（P19），也是RNA结合蛋白，功能是将完整的病毒转录子从胞核往外运输，使HIV从早期基因表达转向晚期基因表达，REV是HIV复制所必需的，缺乏REV时前病毒仍活跃转录但病毒晚期基因却不能表达，无法产生子代病毒体；③*nef*、*vpr*、*vpu*和*vif*的编码产物在体外实验证实不是病毒复制所必需的，但在体内会影响病毒毒力。NEF是HIV感染后第一个可被检出的病毒蛋白，可诱导趋化因子表达，激活T细胞，NEF蛋白还同时下调CD4和MHC Ⅰ类分子的表达。VPR蛋白促进病毒的整合前复合物从胞质运往胞核，还可将细胞周期停留在G2期。VIF蛋白可抑制人类细胞的抑制性蛋白的表达，从而提高病毒的感染性。HIV各基因编码的蛋白及其功能见表30-3。

病毒受体　HIV的复制过程与其他逆转录病毒相似（图30-1），病毒首先与宿主细胞吸附。所有灵长类动物的慢病毒都以CD4分子为受体（receptor），CD4分子主要表达于T淋巴细胞，在单核-巨噬细胞和其他一些细胞表面也有少量表达。HIV-1除了CD4受体外，还需要一个辅助受体（coreceptor）才能进入细胞。病毒包膜刺突糖蛋白gp120首先与CD4结合，随后与辅助受体结合，导致病毒包膜构象改变，激活gp41融合多肽，触发膜融合。

在体外培养细胞系发现，有12个趋化因子受体可起HIV辅助受体作用，如CXCR4、CCR5、CCR2和CCR3等，但在体内仅有CCR5和CXCR4可作为辅助受体。趋化因子SDF-1的受体CXCR4

表30-3 HIV病毒的基因结构

分类	基因	编码蛋白	表达时间	编码蛋白的功能
结构基因	*gag*	P55	晚期	内膜蛋白P17、衣壳蛋白P24、核衣壳蛋白P7和P6
	pol	P160	晚期	蛋白酶、逆转录酶、RNA酶H、整合酶
	env	gp160	晚期	裂解为gp120、gp41，构成病毒表面糖蛋白突起
调节基因	*tat*	P14	早期	反式激活转录因子，与LTR结合后促进病毒基因的转录，增强病毒mRNA翻译
	rev	P19	早期	抑制病毒mRNA拼切，促进未拼切或不完全拼切的病毒mRNA从胞核运往胞浆
	nef	P24	晚期	①下调细胞表面CD4和MHC I类分子的表达；②干扰T细胞活化；③增强病毒感染性；④抑制细胞凋亡
	vif	P23	晚期	抑制细胞的抑制性蛋白表达，促进逆转录
	vpu	P16	晚期	下调CD4的表达，促进病毒释放
	vpr	P15	晚期	①使细胞周期停留在G2期；②便于HIV感染巨噬细胞

缩写：*gag*：glycosaminoglycan；*pol*：polymerase；*env*：envelope；*tat*：transcriptional activator；*rev*：regulator of viral gene expression；*nef*：negative effector；*vif*：viral infectivity factor；*vpu*：viral protein U；*vpr*：viral protein R

是嗜胸腺细胞性HIV（thymocyte-tropic，T-tropic）的辅助受体；趋化因子RANTES、MIP-1α、MIP-1β的受体CCR5是嗜巨噬细胞性HIV（macrophage-tropic，M-tropic）的辅助受体。也有双嗜性（dual-tropic）病毒，辅助受体既可是CCR5也可以是CXCR4。CCR5和CXCR4见于淋巴细胞、巨噬细胞、胸腺细胞、神经元、直肠和宫颈细胞。HIV感染早期主要是嗜巨噬细胞性HIV株，以后逐渐以嗜T细胞性HIV株为主，造成CD4 T细胞大量破坏。

CCR5基因可发生变异，并影响HIV-1感染。约13%高加索人的CCR5等位基因存在一段长为32bp的序列缺失，导致CCR5不能表达于细胞表面，称为CCR5-delta-32突变，高加索人种中约有1%～2%是突变纯合子，可完全抵抗HIV感染。CCR5基因的启动子也可发生突变，并导致HIV感染进程延缓。辅助受体也是抗HIV药物的靶点，恩夫韦地（Enfuvirtide）、马拉维若（Maraviroc）都作用于这个环节阻断病毒包膜与细胞膜融合。

型别与变异　HIV有两型：HIV-1、HIV-2。分型依据是基因序列以及与其他灵长类动物慢病毒的进化关系。两型核酸序列差异超过40%。HIV-1引起全球流行，HIV-2主要在西非呈地域性流行。

HIV基因组频繁变异，同一感染者存在大量基因变异的HIV毒株，这些变异株称为准株（quasi species），是逆转录酶在转录时高度错配的结果。*env*变异最频繁，突变率约为1‰，与流感病毒变异率相似。*env*编码的gp120含有与CD4分子和辅助受体结合的位点，决定HIV的淋巴细胞和巨噬细胞亲嗜性，也携带着中和抗原决定簇。gp120有5个变异区（variable region，V），均位于表面，其中V3是重要的中和抗原决定簇。包膜蛋白的变异使得HIV疫苗难以稳定发挥作用。根据*env*序列可将HIV-1分为M（main）、O（outlier）和N（new）3个组12个亚型，M组包括9个亚型（A～K，没有E和I），O和N组各1个亚型；HIV-2有6个亚型（A～F）。基因型与血清型和中和抗体并没有对应关系，也没有证据说明不同基因亚型在生物表型和致病上有区别。全球流行的主要是M组HIV-1，但是亚型分布不同，美国、欧洲、澳大利亚是B亚型，亚洲（包括中国）为C、E、B型。

培养特性　HIV仅感染表面有CD4分子的细胞，只能在激活细胞中才能发生产毒性感染，因此实验室常用外周血T淋巴细胞经有丝分裂原（如PHA）激活后，与疑有HIV感染的淋巴细胞混合，培养2～4周以分离病毒。

抵抗力　HIV对理化因素抵抗力较弱。常用消毒剂0.5%次氯酸钠、10%漂白粉、50%乙醇、35%异丙醇、0.3% H_2O_2、0.5%多聚甲醛、5%来苏儿等消毒剂室温消毒10分钟即可完全灭活HIV。

加热56℃ 10分钟可灭活液体或10%血清中的HIV。冻干血液制品必须加热68℃ 72小时才能彻底灭活HIV。

二、致病性与免疫性

传染源和传播途径　慢病毒属为完全外源性病毒，只能通过接触来自外源的病毒。HIV携带者和AIDS患者是HIV感染的传染源。从HIV感染者的血液、精液、前列腺液、阴道分泌物、脑脊液、唾液、泪液和乳汁、脊髓及中枢神经组织等标本均可分离到HIV。性传播、血液传播和垂直传播是HIV感染的主要传播途径。

1. 性传播　是HIV的主要传播方式，AIDS是重要的性传播疾病（sexually transmitted disease，STD）。虽然同性性行为被认为是AIDS的主要危险因素，但世界范围内，HIV感染高发地区（非洲、东南亚）的主要传播方式是异性性接触，约为所有性接触传播的70%，危险性随性伴侣的数目成比例增高。如果存在其他STD如梅毒、淋病、HSV-2感染等，可百倍提高性传播HIV的危险性，因为这些感染造成的炎症、溃疡便于HIV突破黏膜屏障。

2. 血液传播　接受含HIV的血液、血液制品（如凝血因子Ⅷ）、器官或组织移植物等，或使用被HIV污染的注射器和针头，用含HIV的精液进行人工授精，均会发生HIV感染。流行病学资料显示，因静脉吸毒共用注射器具而感染HIV占我国检出病例约38%，静脉吸毒曾是HIV在我国蔓延的主要传播途径，但最新调查显示，性传播正成为我国HIV传播的主要途径，HIV流行正从高危人群向一般人群扩散。

3. 垂直传播　包括经胎盘、产道或哺乳等方式传播。在未经抗逆转录病毒治疗的血清阳性妇女中，通过母婴传播的几率从13%～40%，哺乳传播的危险性高于胎盘传播。如果使用抗逆转录病毒治疗，垂直传播机会可减少50%以上。

血液传播、性传播、垂直传播可以涵盖几乎所有的HIV感染。与HIV感染者的日常接触、昆虫媒介叮咬等是否发生传播，尚无支持证据。

临床表现　典型的HIV感染过程包括原发感染、病毒在体内播散、临床潜伏（clinical latency）、HIV表达增强、临床疾病（AIDS）、死亡等阶段（图30-5）。未经治疗的HIV感染持续约十年，进入AIDS后大多于2年内死亡。

原发感染急性期从接触HIV到产生抗体这段时间，一般持续1～2周，表现为疲劳、皮疹、单核细胞增多症等非特异症状。

临床潜伏阶段通常持续5～15年，平均10年，HIV持续复制，CD4 T细胞以每年平均下降50～90细胞/μl的速度进行性减少，临床表现发热、慢性腹泻、全身淋巴肿大等症状。

当CD4/CD8 T细胞数倒置，CD4 T细胞计数＜200细胞/μl，感染者免疫功能障碍，进入AIDS阶段，临床表现为严重的免疫抑制、机会性感染和恶性肿瘤。常见机会性感染有肺孢子菌肺炎（pneumocystis pneumonia，PCP）、鹅口疮（白假丝酵母菌感染）、隐孢子虫腹泻等。常见肿瘤有Kaposi肉瘤（Kaposi's sarcoma）、恶性淋巴瘤等。Kaposi肉瘤是脉管肿瘤，可见于皮肤、黏膜、淋巴结、内脏器官等，由疱疹病毒8型（HHV8）引起，在健康人群中极其罕见，AIDS患者发生Kaposi肉瘤的危险性比普遍人群高20000倍。AIDS患者发生恶性淋巴瘤的几率也比普通人群高1000倍。此外，40%～90% AIDS患者还可见神经症状，包括无菌性脑膜炎、亚急性脑炎、空泡性脊髓病（vacuolar myelopathy）、AIDS痴呆综合征（AIDS dementia complex）。

新生儿对HIV感染的反应与成人不同，因为免疫系统仍不完善，新生儿对HIV的破坏作用尤其敏感，围生期感染HIV的儿童如不经治疗，一般在2岁左右出现症状，并于2年内死亡。

致病机制　HIV感染进入潜伏期后，病毒持续高水平复制，每天约有100亿病毒产生和清除。HIV的存活周期（从感染细胞到产生子代病毒）平均为2.6天，与CD4 T淋巴细胞更新速度相似。发生产毒性感染的T细胞的半衰期约为1.6天。由于大量复制及逆转录酶固有的错配率，病毒每天

都在变异，感染晚期的毒株通常毒力比感染初期的毒株要强，发展到AIDS阶段，通常以嗜T淋巴细胞性毒株为主。

1. CD4 T淋巴细胞和记忆细胞　HIV感染最重要的特点是CD4 T辅助细胞（Th）的损耗。HIV通过多种机制破坏CD4 T细胞：①细胞表面的HIV抗原激活CTL的直接杀伤作用，或者由抗HIV抗体介导的ADCC作用，破坏携带HIV的CD4 T细胞；②嗜T淋巴细胞性HIV毒株感染CD4 T细胞后通常诱导细胞融合，形成多核巨细胞，导致细胞死亡；③HIV复制以及非整合的病毒DNA在细胞大量积聚，抑制细胞正常的生物合成；④镶嵌于细胞膜的gp120与CD4分子发生自融合，破坏细胞膜的完整性和通透性。病毒出芽释放也导致细胞膜大量丢失；⑤诱导CD4 T细胞凋亡；⑥gp41与细胞膜上MHC Ⅱ类分子有同源性，诱导产生具有交叉反应的自身抗体，致使T细胞损伤。

一小部分感染HIV的CD4 T细胞可以回复为静止记忆细胞，在这些细胞内没有或只有极低的病毒基因表达。记忆细胞衰减非常缓慢，半衰期约为43个月，构成了持续稳定的HIV病毒库。当再次接触HIV抗原，记忆细胞被激活并释放子代病毒。如果体内有100万感染HIV的记忆细胞，清除这个细胞库需要70年时间，所以，HIV一经感染就无法彻底清除。

2. 单核-巨噬细胞　机体内除Th细胞表达CD4分子，还有其他细胞表面也少量表达CD4分子，如单核-巨噬细胞、树突状细胞、神经胶质细胞（主要为小胶质细胞）、肠道黏膜的杯状、柱状上皮细胞及嗜铬细胞等，HIV也能感染这些细胞。单核-巨噬细胞表面的辅助受体是CCR5。不同于CD4 T细胞，单核-巨噬细胞对HIV的细胞病变效应的抵抗力强，HIV可潜伏于这些细胞，随之播散至全身，并长期产生产毒，因此，单核-巨噬细胞是体内另一个HIV病毒库。

单核-巨噬细胞在HIV致病中起重要作用。肺泡巨噬细胞感染导致AIDS患者的间质性肺炎。HIV极少感染神经元、少突胶质细胞和星形胶质细胞等神经系统细胞，AIDS晚期的神经系统疾病主要是由感染HIV的单核细胞和巨噬细胞所致。感染HIV的单核细胞进入中枢神经系统后，释放细胞因子和趋化因子，这些细胞因子对神经元具有毒性，趋化因子导致脑部炎性细胞浸润。

3. 淋巴器官　淋巴器官在HIV感染中起着核心作用。人体98%淋巴细胞聚集在淋巴器官，仅有2%分布于外周血。特异免疫应答也是在淋巴器官中形成。淋巴结的微环境很适合HIV感染和播散，淋巴结有大量CD4 T细胞激活，这些激活T细胞对HIV高度易感。当HIV感染发展到晚期，淋巴结的组织结构也被破坏。

机体对HIV的免疫应答　感染HIV后，机体细胞免疫和液体免疫均对HIV产生应答。CTL、NK的清除作用以及ADCC等是机体抗HIV的主要机制。

1. 细胞免疫　细胞免疫应答直接针对HIV蛋白。CTL识别*env*、*pol*、*gag*等基因的编码产物，这种应答由受MHC限制的CD3-CD8淋巴细胞介导。CTL通过多种机制清除HIV：①CTL与结合于HLA的病毒多肽黏附，由穿孔素（perforin）在细胞膜穿孔，进而破坏细胞；②CTL表达FasL，与感染细胞表面的Fas（CD95）结合，诱导细胞凋亡；③CTL表达趋化因子如MIP-1α、MIP-1β和TRANTES，这些分子可结合并屏蔽CCR5，阻止HIV穿入靶细胞；CTL细胞还分泌IFN-γ等多种抗病毒因子，使邻近细胞进入抗病毒感染状态。在HIV感染初期，CTL应答迅速出现，血液中HIV载量暂时下降，CTL应答强度与机体控制HIV感染能力正相关，但是，HIV可通过变异表面抗原、下调细胞MHC表达等机制逃避CTL的杀伤作用。NK细胞也具有抗HIV-1 gp120活性。细胞免疫应答可见于所有的HIV感染者，但随着病程发展会减弱。

2. 体液免疫　HIV感染1～3个月后机体即可检出HIV抗体，包括抗gp120的中和抗体（图30-5）。中和抗体虽然具有保护作用，但仅能中和血清中的病毒，或作用于表达病毒抗原的感染细胞，而对整合于细胞内的前病毒无效。由于HIV包膜持续变异，或因高度糖基化导致抗原决定簇的隐蔽，中和抗体无法长期稳定发挥作用。

HIV感染者的体液免疫系统存在高度激活和低免疫反应性的矛盾。高度激活表现为显著的多克隆高蛋白血症（polyclonal hyperglobulinemia）、骨髓浆细胞增多症（bone marrow plasmacytosis）、

循环血中B淋巴细胞的活性分子高表达、出现自身反应性抗体和自身免疫症状。低免疫反应性表现为B细胞对抗原刺激的反应性降低，HIV感染者在蛋白或多糖疫苗接种之后，常常是无法产生具有免疫反应性的抗体。

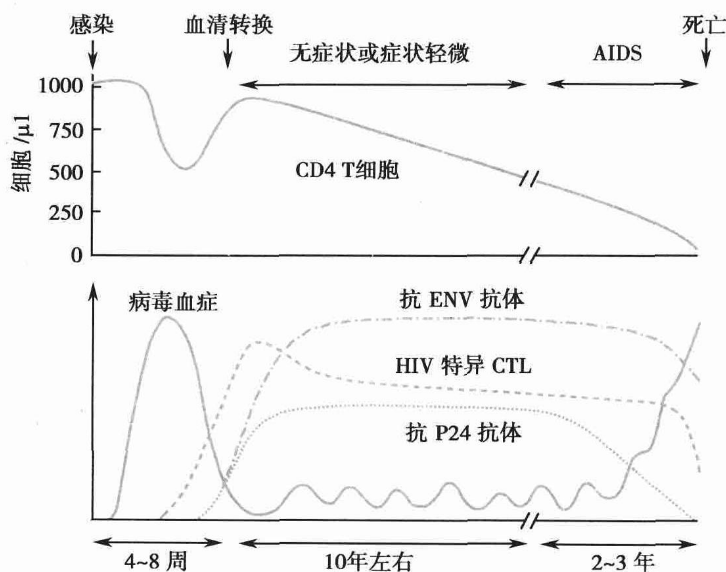


图30-5　HIV感染过程中HIV抗原抗体、CD4 T细胞及CTL的变化

三、微生物学检查法

HIV感染的证据包括：①血清学（抗体）；②病毒核酸或蛋白；③病毒分离。

检测抗体　HIV感染之后血清中可检出病毒抗原，一旦抗体产生之后，抗原则在很长时期检测不到，这个转换称为血清转换（seroconversion），从HIV感染到血清转换的平均时间是3～4周。多数感染者在6～12周之内可检出抗体，6个月后所有感染者均抗体阳性。临床多采用酶联免疫（EIA）检测HIV抗体，其敏感性超过98%。由于HIV和其他逆转录病毒有交叉抗原，因此EIA只能用于HIV感染的筛选，阳性者必须另行试验确认，以排除EIA可能的假阳性。常用的确认试验是蛋白印迹（Western blot），此法可检出与HIV特定分子量的抗原相应的抗体，检测的抗体有抗p24、抗gp41、gp120、gp160等。

随着感染进程发展，抗体应答模式会发生改变。抗包膜糖蛋白（gp41、gp120、gp160）的抗体一直持续下去，但抗GAG蛋白（p17、p24、p55）的抗体后期要降低，其中，抗p24抗体水平降低通常是出现临床症状的先兆（图30-5）。

检测抗原　常用ELISA检测衣壳蛋白p24（图30-5）。p24抗原在感染之后很快就可在血浆中检测到。一旦抗体产生，因为p24和抗p24形成了复合物，p24通常就不能检出。但p24抗原在感染后期还可再检出，这意味着预后不良。因此，p24阳性要么是HIV早期感染，要么就已经发展到AIDS。

检测核酸　常用方法有核酸杂交法、PCR、RT-PCR等。核酸杂交、PCR均可用于检测细胞中前病毒DNA。RT-PCR法用于血液标本的HIV RNA检测，目前常用定量RT-PCR检测血浆标本中病毒RNA的拷贝数，亦称病毒载量（viral load），以对数值（log）/ml来表示，用于监测HIV感染者病情发展及评价药效。

HIV RNA检测可用于新生儿的HIV感染早期诊断，因为新生儿体内有母体来的抗体，血清学检测结果具有很大的不确定性。

病毒分离鉴定　HIV可以利用外周血淋巴细胞培养，从患者标本分离HIV大约需4～6周，多

用于研究。方法是将标本细胞与经有丝分裂原刺激的外周血单核细胞混合培养。首先分离正常人淋巴细胞（或传代T细胞株H9、CEM），用PHA刺激并培养3～4天后，接种患者的单个核细胞、骨髓细胞、血浆或脑脊液等标本，经定期换培养液、补加PHA激活的正常人淋巴细胞，培养2～4周后，如出现不同程度病变，尤其是多核巨细胞，则说明有病毒增殖。进一步可通过以下方法定量：①逆转录酶活性检测；②间接免疫荧光法检测p24，计算感染细胞的百分数；③RT-PCR测定HIV核酸。

耐药性检测　由于基因突变频繁，HIV普遍产生耐药性，抗逆转录治疗需依靠耐药性检测以选择敏感药物，方法有基因检测和表型检测两种。基因检测（genetic assay）是确定HIV病毒逆转录酶、蛋白酶基因上的编码突变，然后通过已有的数据库比对预测毒株对药物的耐药性。表型检测（phenotypic assay）则和细菌的药物敏感性检测方法类似，将病毒核酸接种于细胞，培养液中含有系列稀释的抗逆转录病毒药物，检测病毒对细胞的感染。基因型检测便捷、快速，临床更常用。

四、防治原则

目前尚无临床有效的HIV疫苗。多种候选疫苗处于开发和测试中，这些基于HIV表面糖蛋白的基因重组疫苗，从临床试验看效果均不理想。HIV疫苗研发困难的原因是：①HIV突变频繁；②并不是所有的HIV在细胞内都表达、复制；③机体的免疫应答不能完全清除病毒；④没有合适的动物模型。黑猩猩（chimpanzee）是仅有的HIV易感动物，但黑猩猩来源缺乏，感染HIV后只产生病毒血症和抗体，而不出现免疫缺陷。

预防措施　由于尚无HIV疫苗，防止HIV感染的首要对策就是洁身自好，保持良好的生活习惯，将HIV感染的危险因素减到最低限度。预防和控制HIV感染的政策性措施包括：①广泛的AIDS预防教育宣传：这是现阶段最重要、最有效的措施，发达国家疫情得到稳定控制与此有关；②安全性行为：是防止HIV流行的关键措施，流行病学调查显示，使用安全套避免HIV感染的有效率达69%；③取缔娼妓、打击吸毒行为；④志愿献血制度：据WHO调查，无偿志愿献血者远比有偿献血者安全。采集血液应做HIV抗体检测，确保输血和血液制品的安全，禁止进口血液制品；⑤全球和地区性HIV感染的监测网络，及时掌握疫情蔓延趋势，国境检疫。

药物治疗　目前的抗逆转录病毒药物针对HIV复制周期下述四个环节：

1. 抑制逆转录酶　包括两类药物：①核苷类逆转录酶抑制剂，如叠氮胸苷（azidothymidine，AZT）、2'，3'-双脱氧肌苷（ddI）、2'，3'-双脱氧胞苷（ddC）和拉米呋啶（lamivudine）等；②非核苷类逆转录酶抑制剂，如德拉维丁（delavirdine）和耐维拉平（nevirapine）。这些药物能干扰病毒DNA合成，抑制病毒在体内的增殖。

2. 抑制蛋白酶　赛科纳瓦（saquinavir）、瑞托纳瓦（ritonavir）、英迪纳瓦（indinavir）和耐非纳瓦（nelfinavir）等均抑制HIV蛋白酶，使大分子前体蛋白不能裂解为成熟蛋白，影响病毒的成熟。

3. 抑制病毒与细胞膜融合　融合抑制剂（fusion inhibitor）如Enfuvirtide（即Fuzeon，T-20）能与gp41结合，从而阻断HIV包膜与细胞膜融合。

4. 抑制整合酶　Raltegravir（雷特格韦）作用于HIV的整合酶，抑制病毒基因组整合至细胞染色体，2007年批准应用于临床。

由于HIV频繁基因突变，其逆转录酶、蛋白酶极易变异，临床上抗逆转录病毒药物不能单独使用，否则极易产生耐药毒株。联合应用多种药物的高效抗逆转录病毒治疗（highly active antiretroviral therapy，HAART，俗称鸡尾酒疗法），通常是联合使用2种逆转录酶抑制剂和1种蛋白酶抑制剂的三联治疗，可将血浆病毒载量降到低于可检测水平，机体免疫系统因而得到恢复。CD4 T细胞数低于350/μl时应考虑HAART，低于200/μl时极易发生机会性感染，必须立即HAART。但是，HAART不能根除HIV感染，因为HIV持续潜伏于静止的记忆CD4 T细胞和单核-巨噬细胞中，停止HAART后病毒载量会迅速反弹。

第二节　人类嗜T细胞病毒

人类嗜T细胞病毒（human T-lymphotropic virus，HTLV）是首个被发现的人类逆转录病毒。紧随其后从一例毛细胞白血病（hairy cell leukemia）患者外周血中分离到第二个人类逆转录病毒，二者基因组有65%同源性，故前者命名为HTLV-1型，后者为HTLV-2型。

生物学性状　属于δ逆转录病毒属，直径约100nm。包膜表面有糖蛋白刺突，能与靶细胞表面的CD4分子结合，衣壳含有P24、P19和P15三种蛋白。基因组长约9.0kb，两端为LTR，含3个结构基因（*gag*、*pol*、*env*）和2个调节基因（*tax*、*rex*），基因组无癌基因序列。gag基因编码的前体蛋白被蛋白酶切割为P24、P19、P15，组成病毒的衣壳或核衣壳，3种蛋白均有抗原性，在感染者血清中可出现相应抗体。*env*编码gp46、gp21两个糖基化蛋白，其中gp46位于细胞表面，p21为跨膜蛋白。

两个调节基因与HTLV的致病性有关。*tax*基因编码的TAX（P40）分布于感染细胞核内，具有两种活性：①活化病毒LTR，反式激活前病毒DNA转录，促进病毒mRNA合成；②诱导NF-κB表达，NF-κB进一步刺激IL-2受体（IL-2r）和IL-2表达。*rex*基因编码P27，为磷酸化蛋白，分布于细胞核内，决定位于胞核的哪些mRNA外运到胞质，以合成蛋白，与细胞的表达密切相关。

致病性和免疫性　HTLV-1型与HTLV-2型是引起人类肿瘤的逆转录病毒，均为外源性病毒。HTLV的传染源是患者和HTLV感染者。HTLV-1的感染主要通过性接触、输血、注射等方式水平传播，以及通过胎盘、产道和哺乳等途径垂直传播。HTLV-1的流行表现明显的地区性，日本九州、非洲某些地区和加勒比海一些岛屿可以检出很高的阳性率，而世界其他地区血清阳性率极低，表现为散发感染。

HTLV-1是成人T细胞白血病（adult T-cell leukemia，ATL）的病原体。ATL好发于40岁以上成人。HTLV感染潜伏期长，多无临床症状，约有1/20感染者发生急性和慢性成人T细胞白血病。急性ATL主要表现为白细胞增多，淋巴结及肝脾肿大，并出现红斑、皮疹等皮肤及神经系统损伤等症状，预后不良。慢性ATL除白细胞数增多和皮肤症状外，仅少数病例有淋巴结、肝脾肿大症状。此外临床还分隐匿型和淋巴瘤型。HTLV-1型还引起HTLV-1型相关脊髓病（HTLV-1 associated myelopathy，HAM）及热带痉挛性下肢轻瘫（tropical spastic paraparesis，TSP），因两者相似，故总称HAM/TSP。患者以女性居多，主要症状为慢性进行性步行障碍与排尿困难，有时伴有感觉障碍。HTLV-2的致病尚无确切结论。

HTLV诱发白血病的机制与其他急性RNA肿瘤病毒（如Rous肉瘤病毒）不同，HTLV没有癌基因，其致病与TAX和REX两个调节蛋白有关：①当HTLV进入CD4 T细胞后，TAX激活NF-κB，进而激活IL-2受体基因，使CD4 T细胞的细胞膜出现IL-2受体。TAX激活HTLV-1前病毒转录时也激活IL-2基因，导致IL-2过量表达。IL-2与IL-2受体结合，导致CD4 T细胞大量增殖；②TAX还能激活细胞原癌基因，表达转化蛋白，进一步促进细胞转化和增殖；③HTLV前病毒整合到细胞染色体上，可能导致细胞基因突变。

机体被HTLV-1感染后，血清中可出现HTLV-1抗体，如抗P24、P21、gp46抗体等，但抗体出现后，病毒抗原表达减少，影响细胞免疫清除感染细胞。

微生物学检查　检测HTLV特异性抗体是HTLV感染实验室诊断的主要方法依据，HTLV-1和HTLV-2血清交叉反应强烈，常规血清学方法不能区分。常用方法：①ELISA：用HTLV-1病毒裂解物或裂解物/重组P21蛋白作抗原，与患者血清反应，以检测 HTLV-1/2抗体；②间接免疫荧光：以HTLV-1/2感染的T细胞株作靶细胞抗原制成细胞涂片，加患者血清反应后再加荧光标记的抗人IgG，荧光显微镜下观察荧光阳性细胞。阳性血清需经蛋白印迹试验确认。HTLV的血清学检测与HIV血清学检测无交叉反应。

PCR用于检测外周血单个核细胞中前病毒DNA，以及HTLV的型别诊断，敏感性最高。

病毒分离可将患者外周血淋巴细胞经PHA激活后，加入含有IL-2的营养液培养3～6周，检测细胞培养液上清逆转录酶活性，阳性标本电镜观察细胞中的C型病毒颗粒，并用抗HTLV免疫血清或单抗进行病毒鉴定。

防治原则　目前对HTLV感染尚无特异的防治措施，可以采用IFN-α和逆转录酶抑制剂等药物进行治疗。

展　望

从发现AIDS至今已近三十年，HIV感染的控制和研究虽然取得了显著进展，但疫情仍以迅猛的速度在全球流行，严重威胁人类健康，还有大量问题亟待解决。

逆转录病毒和HIV的发现历程　1908年丹麦学者Vilhelm Ellerman与Oluf Bang发现鸡红白血病可经无细胞滤液传染，但未引起关注。1910年美国学者Peyton Rous将鸡肉瘤瘤体移植给健康鸡，接受移植物的鸡也出现肉瘤，将肉瘤组织研磨并经细菌滤器过滤，健康鸡接种后仍可患上肉瘤，因此发现劳斯肉瘤病毒（Rous sarcoma virus，RSV）。Rous还发现几种其他禽类肿瘤病毒，证实病毒是肿瘤的病因之一，获1966年诺贝尔生理学与医学奖。

1961年有研究证实RSV病毒基因组由RNA组成。1964年美国学者Howard Temin观察到放线菌素D（actinomycin D）可抑制RSV复制，但是放线菌素D只抑制DNA合成，Temin据此提出逆转录（reverse transcription）学说，认为RSV基因组首先逆转录成DNA，然后整合到宿主细胞染色体成为前病毒（provirus）。David Baltimore也发现了类似现象。Temin和Baltimore因此获1975年诺贝尔生理学与医学奖。RSV致肿瘤的机制研究导致了癌基因（*v-src*）及原癌基因（*c-src*）的发现。

人类的逆转录病毒发现较晚。美国学者Robert Gallo在建立体外培养T细胞方法时发现刺激T细胞生长的白细胞介素2（interleukin 2，IL-2），靠IL-2的刺激作用T细胞可在体外长时间培养，为分离感染T细胞的病毒打下基础。1981年Gallo等从白血病患者血液中分离到第一个人类逆转录病毒——人类T细胞白血病病毒（human T-cell leukemia virus，HTLV），后命名为人类嗜T淋巴细胞病毒Ⅰ型（human lymphotropic virus 1，HTLV-1）。

1981年美国学者Michael Gottlieb等报道5位不明原因发热、口腔白斑、肺炎的患者，均为男性同性恋，肺活检证实均患卡氏肺胞虫肺炎，血液检测发现CD4 T细胞计数极低，这是AIDS的首例报道。1983年法国巴斯德研究院Luc Montagnier、Françoise Barré-Sinoussi等从一位淋巴腺病患者取得淋巴活检组织，并从培养的淋巴细胞分离到一株逆转录病毒，后证实是AIDS的病原，命名为人类免疫缺陷病毒（HIV）。2008年Montagnier和Barré-Sinoussi因此获诺贝尔生理学与医学奖。

HIV的起源与扩散　从人类以外的灵长类动物分离到许多慢病毒属病毒，这些慢病毒可归纳为5个主要进化枝。灵长类（人、猴）慢病毒的基因组结构非常相似，其中HIV-1和感染黑猩猩（chimpanzee）的SIVcpz均携带*vpu*基因，而HIV-2和大多数SIV携带*vpx*基因。目前认为，感染西非的黑白眉猴（sooty mangabey）的SIVsm与HIV-2是同一毒株的变种，而来自黑猩猩的SIVcpz与HIV-1是另一毒株的变种。因此，HIV起源于非洲的SIV，由于人类接触SIV感染的灵长类动物而感染。

应用分子检测技术回溯性研究既往病例尸检标本，获得的序列进化分析显示，SIVcpz大约在20世纪30年代就感染了人类，进而发展为HIV-1，SIVsm于20世纪60年代在西非感染人类，变种为HIV-2。HIV感染原本局限于非洲，20世纪中叶特定的经济、社会条件为HIV扩散提供了机会，渐渐达到了全球流行的规模。

HIV/AIDS疫情　HIV/AIDS流行表现为地域广、速度快，世界各国均被累及。根据联合国艾滋病规划署（UNAIDS）2009年年度报告，截至2008年底，全球范围内估计有3.34千万人感染HIV，其中2008年新发感染270万，200万人死于AIDS。新发感染数量趋于稳定，但由于抗病毒治疗延

长HIV感染者寿命等原因，全球HIV感染者总数仍然呈上升态势。南部非洲是HIV/AIDS重灾区，2008年全球37%新发感染病例和38% AIDS死亡病例发生在该地区，尤其是撒哈拉沙漠以南（Sub-Saharan Africa），全球67%HIV感染者生活在该区域，该区域国家的HIV感染率高达15%～28%。全球范围内约一半的HIV感染者是女性，其中60%在撒哈拉以南国家。

亚洲目前约有500万HIV/AIDS病例，疫情最严重的是东南亚国家。截止2008年底我国历年累计HIV/AIDS共约27.6万例，其中AIDS病例8.2万例，死亡3.8万例。2008年一年报告HIV感染者约4.6万例、AIDS病例约1.5万例、死亡近万例，感染者男女比例约2：1。HIV在我国的流行特点是：①流行仍然呈上升趋势，但上升速度有所减缓；②性传播逐渐成为主要传播途径；③HIV/AIDS疫情地区分布差异大，部分地区疫情严重；④艾滋病流行因素尚未有效控制。

HIV/AIDS治疗　目前抗逆转录病毒药物种类超过20余种，耐药性是HAART治疗失败的主要原因。由于HIV基因频繁突变，针对HIV蛋白的药物均存在药靶变异而耐药的问题。近年的一个研发方向是选择宿主细胞蛋白为药靶，以避免病毒突变带来的耐药问题，例如，新近获批的CCR5拮抗剂马拉维若（Maraviroc）可与HIV竞争结合至CCR5辅助受体，从而阻止HIV进入宿主细胞。相比，融合抑制剂恩夫韦地（Enfuvirtide）与gp41结合，抑制HIV与细胞膜融合，可能因gp41变异而产生耐药。

HIV疫苗　HIV疫苗研究目前处于困境。多个基于HIV表面糖蛋白的基因重组疫苗在临床试验均告失败。经过Ⅱb期临床试验的HIV疫苗MRKAd5（即V520）于2007年9月宣布失败，此前基于重组gp120的疫苗也在Ⅲ期临床试验失败。MRKAd5是用5型腺病毒（Ad5）为载体的疫苗，由表达HIV *gag*、*pol*、*nef*基因的重组Ad5构成的三价疫苗，免疫方案是初次接种1个月后复种，6个月时加强免疫，2004年12月开始在北美、南美、加勒比以及澳洲等地共1500名HIV阴性的高危人群中试验，至2007年9月，接种疫苗人群中49人感染HIV，感染人数甚至高于接种安慰剂组。

这些疫苗是在通过体外试验后进入体内试验，体内试验的结果说明体外研究在模拟体内环境存在脱节，问题在于迄今还没有一个良好的HIV感染动物模型，灵长类动物（如黑猩猩）虽可感染HIV，却不引起AIDS，不利于HIV疫苗效果的观察和评价。

当前也许应该加大对HIV基础研究，只有对HIV有了更深入的了解之后疫苗研发才有可能。现有唯一有效的逆转录病毒疫苗——马传染性贫血病毒（EIAV）疫苗是由我国建立，该疫苗能有效阻断EIAV在马群中传播。EIAV疫苗是在分子技术建立之前，靠经典病毒学方法（主要是宿主变异和毒力变异）建立减毒活疫苗，目前EIAV疫苗的作用原理仍不清楚。出于安全考虑，逆转录病毒减毒活疫苗和灭活疫苗均不能应用于人类，但探寻EIAV疫苗的作用机制对研发HIV疫苗将是一个良好的借鉴。

（钟照华）

第三十一章　其他重要病毒

本章主要介绍能引起人类疾病而其他章节又未涉及的一些重要病毒，包括狂犬病病毒、痘病毒、人类细小病毒及博尔纳病病毒。这些病毒在生物学特性及致病性上差异较大，具有相对的独立性。

This chapter introduces rabies virus, poxviruses, parvoviruses, and bornaviruses.

Rabies is an acute fatal viral illness of the central nervous system and is enzootic in both wild and domestic animals. It was first recognized more than 3000 years ago and has been the most feared of infectious diseases. Rabies virus is usually transmitted to humans from the bite of a rabid animal. Although the number of human cases is small, rabies is a major public health problem because it is widespread among animal reservoirs.

Poxviruses are the largest and most complex of viruses. The poxvirus family encompasses a large group of viruses that infect birds, mammals, and even insects and are morphologically similar and share a common nucleoprotein antigen. The agents most important in human disease are variola (smallpox), vaccinia, molluscum contagiosum, cowpox, and pseudocowpox. Even though smallpox was declared eradicated from the world (in 1980) after an intensive campaign coordinated by the World Health Organization (WHO), there is concern that the virus could be reintroduced as a biologic weapon. There is a continuing need to be familiar with vaccinia virus (used for smallpox vaccinations) and its possible complications in humans. It is also necessary to be aware of other poxvirus diseases that may resemble smallpox and must be differentiated from it by laboratory means. Vaccinia virus is under intensive study as a vector for introducing active immunizing genes as live-virus vaccines for a variety of viral diseases of humans and domestic animals.

The parvoviruses (*parvo* means small) are a group of very small DNA viruses that are ubiquitous and infect many species of animals. Diseases caused by parvoviruses have been recognized among nonhuman hosts for a number of years. Notable among these are canine parvovirus and feline panleukopenia virus, which produce particularly severe infections among puppies and kittens, respectively. The only known parvovirus pathogenic for humans, B19, has a tropism for erythroid progenitor cells and hence produces aplastic crisis in predisposed individuals with underlying hemolytic anemia or immunodeficiency.

Borna disease is an encephalomyelitis primarily of horse, sheep, and cattle in Europe, Africa, and the Near East caused by borna disease virus (BDV) . Many species can be infected by BDV, including humans. Serologic data suggest that BDV may be associated with neuropsychiatric disorders in humans, although it remains to be established whether BDV is etiologically involved in the pathophysiology of certain human mental disorders.

第一节　狂犬病病毒

狂犬病（rabies）是由狂犬病病毒（rabies virus，RV）引起的一种人兽共患的中枢神经系统急

性传染病。狂犬病病毒是一种嗜神经性病毒，几乎所有的温血动物对狂犬病病毒都很敏感，可在野生动物（狼、狐狸、鼬鼠、蝙蝠等）及家养动物（狗、猫、牛等）之间传播。人主要是被病兽或带毒动物咬伤而受感染，99%的人患狂犬病与犬狂犬病有关。一旦受染，如不及时采取有效防治措施，可导致严重的中枢神经系统损害，病死率极高。

一、生物学特性

1. 形态与结构　狂犬病病毒属于弹状病毒科（*Rhabdoviridae*）狂犬病毒属（*Lyssavirus*）。病毒外形似子弹状，大小约75×180nm。病毒体由核衣壳和包膜两部分组成，中心由单负链RNA和核蛋白（N）构成核糖核蛋白（RNP），其表面有转录酶大蛋白（L）及磷蛋白（P，又称Ns蛋白）共同组成螺旋形对称的核衣壳复合体；外面是脂蛋白包膜，表面嵌有糖蛋白（G）刺突；在核衣壳与包膜之间还有基质蛋白（M）（图31-1）

狂犬病病毒基因组由11928～11932个核苷酸组成，从功能上分为先导RNA、编码区、非编码区以及间隔区四个部分，由3′端至5′端依次排列着N、P、M、G和L等全部5个结构基因，其长度分别为1424bp、991bp、805bp、1675bp和6475bp。由于该病毒的基因组在转录过程中有衰减现象，转录效应由3′到5′端递减，所以在病毒的所有5个基因中，以N基因最为保守和高效表达，被广泛应用于狂犬病的诊断和检测。病毒基因组所编码的蛋白中，N蛋白抗原性强，是诱导机体细胞免疫的主要成分，但不能刺激机体产生中和抗体。不同毒株间N蛋白的抗原性相同，具有属抗原特异性，可用抗N蛋白单抗进行狂犬病病毒分子流行病学研究。L蛋白分子量最大，是一种RNA多聚酶，在病毒基因的转录与复制过程中发挥着关键的催化作用。P蛋白为一种磷酸化蛋白，与L蛋白结合构成完整的病毒RNA聚合酶复合体，实现对病毒的转录、复制等多功能调节。M蛋白是狂犬病病毒最小的结构蛋白，在病毒核衣壳和包膜之间起连接作用，并与病毒的出芽、核蛋白的复制及mRNA的转录密切相关。G蛋白是一种糖基化蛋白，构成包膜表面的刺突，是病毒的主要表面抗原，能刺激机体产生中和抗体、血凝抑制抗体和细胞免疫应答，并且是狂犬病病毒与细胞受体结合的结构，因此是病毒的主要保护性抗原，与病毒的致病性及免疫性密切相关。

2. 培养特性　狂犬病病毒能在多种细胞包括原代细胞、传代细胞和二倍体细胞株（如鸡胚、地鼠肾细胞、人二倍体成纤维细胞等）中增殖，在非洲绿猴肾（Vero）细胞中生长良好，病毒的复制周期短，病毒量多，国内外已用于灭活疫苗的生产。在易感动物或人的中枢神经细胞、主要是大脑海马回的锥体细胞中增殖时，可以在胞质内形成一个或多个、圆形或椭圆形、直径为20～30nm

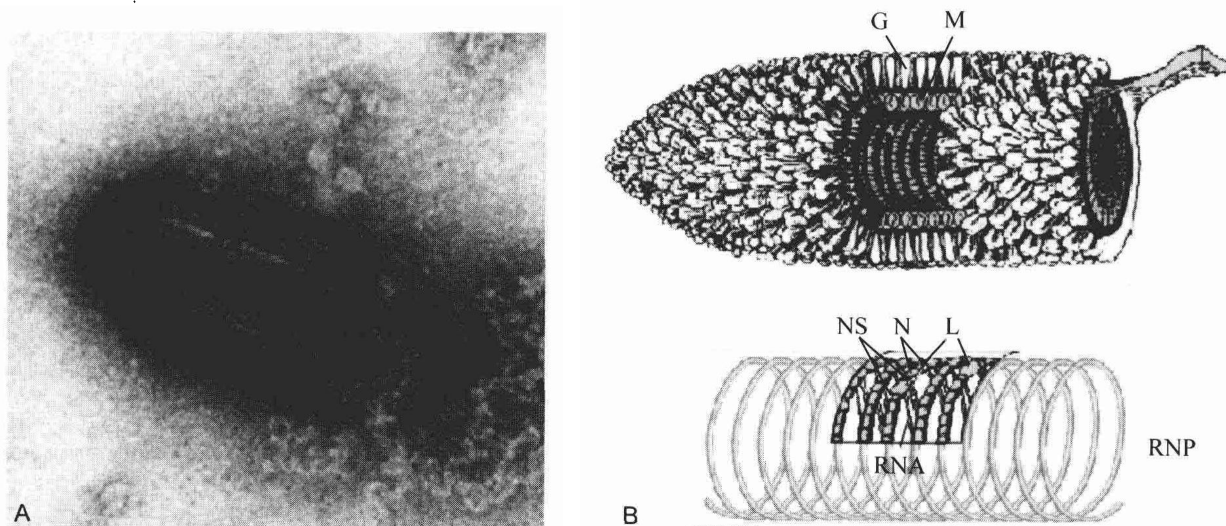


图31-1　狂犬病病毒电镜观察与结构模式图
A. 电镜图；B. 结构模式图

的嗜酸性包涵体，称之为内基小体（Negri body）（图31-2）。通过检查动物或人脑组织标本中的内基小体，可以辅助诊断狂犬病。

3. 抗原分型与遗传变异性 过去认为，狂犬病病毒只有一个血清型，从世界各地分离的病毒株抗原性均无差异。但近年发现，从不同动物分离的病毒株在细胞培养中的生长特点，对实验动物毒力的强弱，以及病毒包膜的糖蛋白抗原结构均存在明显差异。利用病毒G和N蛋白制备的单抗分析可对病毒抗原性变异进行鉴定，据此，WHO狂犬病专家委员会第八次会议将狂犬病病毒分为5个血清型，这些血清型分布在世界各地。

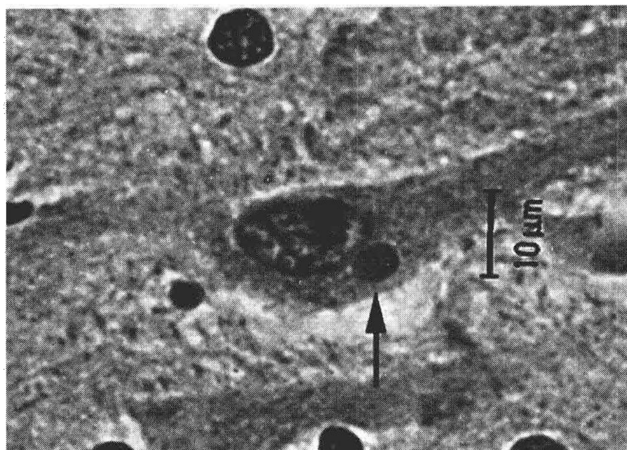


图31-2 神经细胞胞质中狂犬病病毒内基小体

从自然感染的动物体内分离到的狂犬病病毒称为野毒株（wild strain）或街毒株（street strain），这种毒株的特点是接种动物发病所需的潜伏期长，毒力强，脑外途径接种后易侵入脑组织和唾液腺内；将野毒株在家兔脑内连续传代后，病毒对家兔致病的潜伏期可以随传代次数的增加而逐渐缩短；传代至50代左右时，潜伏期可由原来的4周左右缩短为4～6天；但继续进行传代，潜伏期不再缩短。这种毒力变异的病毒株称为固定毒株（fixed strain），其对人或犬的致病性明显减弱，从脑外途径对犬进行接种时，不能侵入脑神经组织引起狂犬病。巴斯德首先创用固定毒株制成减毒活疫苗，预防狂犬病。

4. 抵抗力 对热、紫外线、日光、干燥的抵抗力弱。加温40℃ 1小时或60℃ 30分钟即灭活，也易被强酸、强碱、甲醛、碘、醋酸、乙醚、肥皂水及离子型和非离子型去污剂灭活；但病毒在4℃下能存活数月，冰冻干燥条件下可保存数年。

二、致病性与免疫性

1. 致病性 狂犬病病毒能感染多种动物，如犬、猫、牛、羊、猪等家畜以及狼、狐狸、鹿、臭鼬、野鼠、松鼠等野生动物。野生动物为狂犬病病毒的自然储存宿主，家畜的狂犬病来自于野生动物的接触传播。拉丁美洲的吸血蝙蝠及欧美的食虫蝙蝠等还可携带病毒而不表现症状，因此，此种蝙蝠可能是病毒在自然界的重要储存宿主。我国的疫情资料表明，犬为人狂犬病的主要传染源，但发达国家由于犬狂犬病已被控制，野生动物如狐、吸血蝠、臭鼬、浣熊等逐渐成为重要传染源。

人患狂犬病主要是被患病动物咬伤所致，但亦可因破损皮肤黏膜接触含病毒材料而致感染。在动物发病前5天，在唾液中可含有病毒，人被其咬伤后，病毒通过伤口进体内。肌细胞是狂犬病病毒的靶细胞。研究发现，狂犬病病毒G蛋白能与广泛分布于肌细胞和神经细胞膜上的乙酰胆碱受体（nicotinic acetylcholine receptor，nAChR）、神经细胞黏附分子（neuronal cell adhesion molecule，NCAM）、神经营养因子p75受体（p75 neurotrophin receptor，p75NTR）等受体相结合，介导狂犬病病毒侵入细胞内，从而决定了狂犬病病毒的嗜神经性。进入体内的病毒不侵入血流，首先在肌细胞中增殖，然后选择性地在神经-肌肉接头处与nAChR结合，侵入附近的外周神经，由神经末梢沿神经轴索上行至中枢神经系统，在神经细胞内增殖并引起中枢神经系统损伤，然后又沿传出神经扩散至唾液腺和其他组织，包括泪腺、视网膜、角膜、鼻黏膜、舌味蕾、皮脂腺、毛囊、心肌、骨骼肌、肺、肝和肾上腺等。当迷走神经核、舌咽神经核和舌下神经核受损时，可发生呼吸肌、吞咽肌痉挛；当迷走神经节、交感神经节和心脏神经节受损时，可发生心血管系统功能紊乱或猝死。狂犬病病毒感染神经细胞后造成细胞功能失调的具体机制还不清楚，可能与病毒感染神经细胞后引起细胞凋亡以及抑制宿主神经细胞特异性基因的表达有关。

感染后的潜伏期一般为1～3个月，但亦有短至1周或长达数年才出现症状者，其长短取决于被咬伤部位与头部的远近及伤口内感染的病毒量。人发病时的典型临床表现是神经兴奋性增高，吞咽或饮水时喉头肌肉发生痉挛，甚至闻水声或其他轻微刺激均可引起痉挛发作，故又称恐水病（hydrophobia）。这种兴奋期典型症状经3～5天后，患者转入麻痹期，最后因昏迷、呼吸及循环衰竭而死亡。病死率几乎达100%。

2. 免疫性　狂犬病病毒包膜上的糖蛋白及核衣壳上的核蛋白均含有保护性抗原和T细胞免疫表位，能诱导机体产生中和抗体、$CD4^+$辅助性T细胞和$CD8^+$细胞毒性T细胞。中和抗体有中和游离状态的病毒、阻断病毒进入神经细胞内的作用。但抗体对已进入神经细胞内的病毒难以发挥作用，同时也可能产生免疫病理反应而加重病情。杀伤性T淋巴细胞在机体内可杀死表达病毒糖蛋白的靶细胞，表明有多种细胞因子参与的细胞免疫在机体抗狂犬病毒保护性免疫方面起着重要作用。

三、微生物学检查法

狂犬病的微生物学检查法主要包括检测病毒抗原、RNA以及病毒分离。

1. 狂犬病快速酶免疫诊断法　为狂犬病实验室常用方法。可取患者的脑脊液、脑组织、唾液等标本，检测病毒抗原。此法快速，阳性率较高。

2. 荧光抗体检查法　发病第一周可取患者唾液、鼻咽洗液、尿沉渣或角膜印片等用特异性荧光抗体染色，检测病毒抗原。死亡的患者或动物，可取其脑组织如小脑或海马沟回处组织作压印片用荧光抗体染色法检查病毒抗原，同时作病理切片检查内基小体。

3. 反转录PCR方法　应用RT-PCR方法可检测标本中病毒的RNA，用做狂犬病的早期诊断。

4. 病毒分离　小鼠对狂犬病病毒非常敏感，常用于分离病毒。将待检脑组织或其他标本接种小鼠颅内，分离出病毒，用电镜直接观察或经中和试验鉴定。此法准确率高，但需时长，阳性率较低。

四、防治原则

我国养犬数量增加而免疫接种率低是狂犬病发病率增高的主要原因，因此，捕杀野犬，加强家犬管理，注射犬用疫苗，是预防狂犬病的主要措施。人被动物咬伤后，应采取下列预防措施：

伤口处理　立即用20%肥皂水、0.1%苯扎溴铵或清水反复冲洗伤口，再用70%乙醇及碘酒涂擦，伤口不宜缝合和包扎。

被动免疫　用高效价抗狂犬病病毒血清于伤口周围与底部行浸润注射及肌注，如能同时接种狂犬病疫苗则效果更佳。

疫苗接种　目前尚无治疗狂犬病的有效方法，因狂犬病的潜伏期一般较长，人一旦被患病动物咬伤后，应尽快注射狂犬病疫苗，可以预防发病。1885年法国科学家巴斯德第一次以疫苗接种的方式用兔脑制备的减毒狂犬病疫苗成功救治了一例被狂犬所伤的儿童，从此开始了人类接种疫苗预防传染病的新纪元。我国目前主要用地鼠肾原代细胞狂犬病疫苗（primary hamster kidney tissue culture rabies vaccine，PHKC-RV）或人二倍体细胞狂犬病疫苗（human diploid cell vaccine，HDCV），于暴露后第0、3、7、14和28天各肌注一剂疫苗，注射部位成人应为三角肌，儿童为大腿内或外侧，应尽量避免作臀部肌肉注射。一些有接触病毒危险的人员，如兽医、动物管理员和野外工作者等，亦应用疫苗预防感染。

第二节　痘　病　毒

痘病毒（poxvirus）是所有已知病毒中体积最大、结构最复杂的一类DNA病毒。痘病毒科（Poxviridae）根据宿主范围分为两个亚科，其中脊椎动物痘病毒亚科（Chordopoxvirinae）又分成

8个属。引起人类疾病的痘病毒主要为正痘病毒属（*Orthopoxvirus*）和副痘病毒属（*Parapoxvirus*）的成员，部分属于雅塔痘病毒属（*Yatapoxvirus*）和软疣痘病毒属（*Molluscipoxvirus*）；大多数通过直接接触或吸入传播，引起皮肤痘疱样皮疹，损害相对较为温和，但少数引起严重的甚至致死性的全身感染。对人类危害最严重的是正痘病毒属的天花病毒（smallpox，variola virus），历史上多次全球性的天花大流行，给人类造成了深重的灾难。由于持久地使用牛痘苗和痘苗病毒进行了广泛的人群免疫接种，WHO终于在1980年宣布在全世界彻底根除了天花。虽然天花病毒被消灭了，但其他一些痘病毒，包括牛痘病毒（cowpox virus）、猴痘病毒（monkeypox virus）、人传染性软疣病毒（molluscum contagiosum virus）等亦能引起人类疾病，有些甚至引起天花样的疾病流行。2003年美国先后有6个州报告猴痘病毒感染暴发流行，引起全世界的关注。

一、生物学特性

1. 形态与结构　痘病毒结构复杂，大小约400 × 230nm，光学显微镜下勉强可见。电镜负染色观察，病毒体呈圆角砖形或卵圆形，表面有不规则排列的脂蛋白管形亚单位包绕形成的外膜；副痘病毒颗粒较正痘病毒小（260 × 160nm），但微管在病毒表面形成特殊的十字交叉状排列（图31-3）。病毒体内部有一哑铃形核心，又称拟核（nucleoid，N），由线形双链DNA基因组和至少15种以上与病毒增殖相关的酶组成，另有一层内膜包绕核心形成核心体。在核心体与外膜之间还有两个未知功能的侧体（lateral bodies，LB）。以出芽方式释放到细胞外的痘病毒在病毒体外还有一层来源于细胞膜的脂蛋白包膜（图31-4）。痘病毒基因组的核酸长度与病毒种属有关，从130kb（副痘病毒属）至375kb（禽痘病毒属）不等，可编码数百种蛋白；基因组两端均有反向末端重复序列，且长度也因毒株不同而有差异，大多编码非必需蛋白，与病毒的型特异性及宿主范围等有关；病毒基因组中央区域约120kb为保守区，核苷酸变异较小，主要编码结构蛋白及与病毒复制有关的酶类。

2. 病毒复制与培养特性　痘病毒的复制过程，包括RNA与DNA的合成均在宿主细胞的胞浆中进行，故病毒的DNA或其片段都不会与宿主的基因组发生整合。病毒基因组可编码病毒复制时所需的多种酶类，有其自身的基因调控系统，可不依赖宿主细胞而能独立进行复制。病毒基因的表达过程受严格地控制，根据表达的先后可分为早期、中期和晚期基因表达。复制过程主要包括以下几个阶段：穿入和脱外膜（30分钟）、早期转录（1～2小时）、DNA合成（2～4小时）、晚期转录与装配（4～6小时）、病毒颗粒出芽释放（图31-5）。痘病毒可在鸡胚绒毛尿囊膜、人羊膜传代细胞、HeLa、Vero等组织

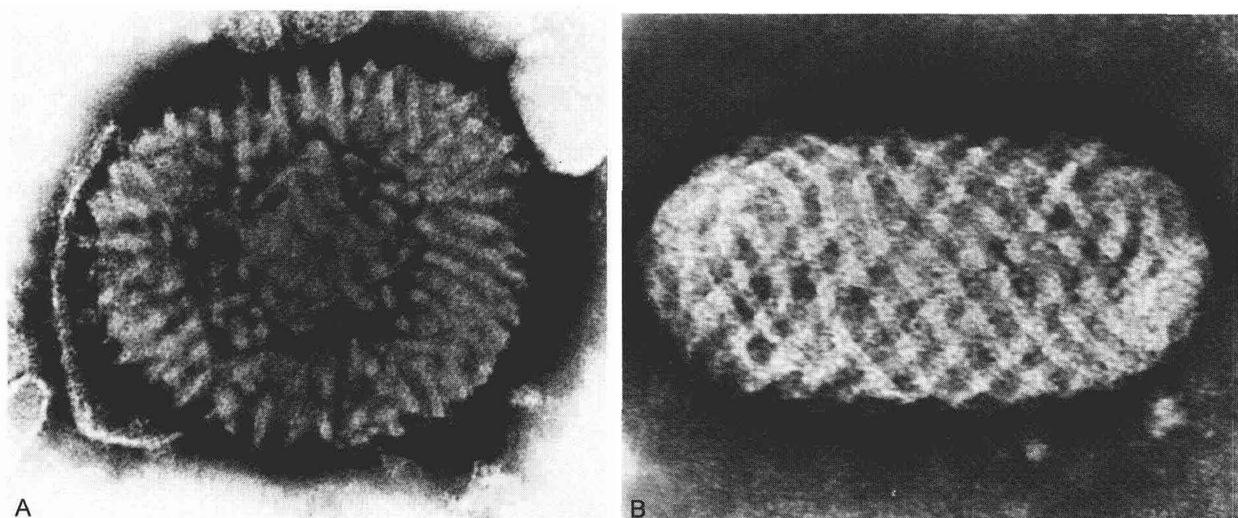


图31-3　痘病毒形态电镜观察（负染色）
A. 正痘病毒（×228000）；B. 副痘病毒（×200000）

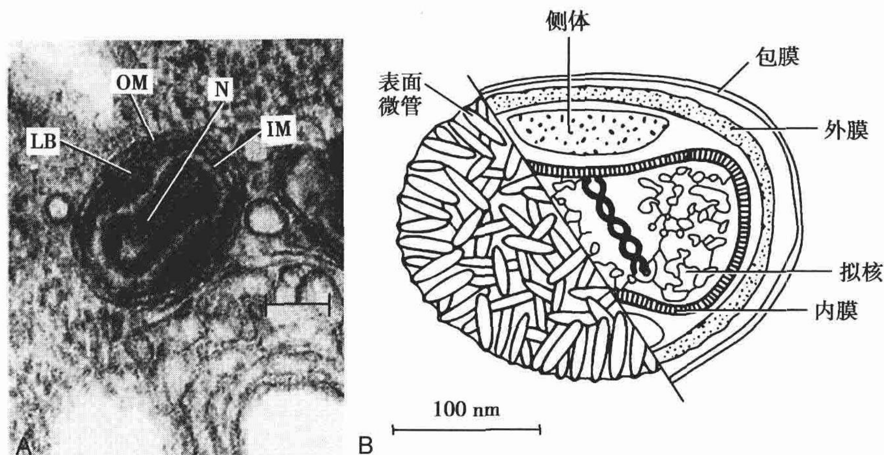


图31-4　细胞内痘苗病毒超薄切片电镜观察（A）及痘病毒结构模式图（B）

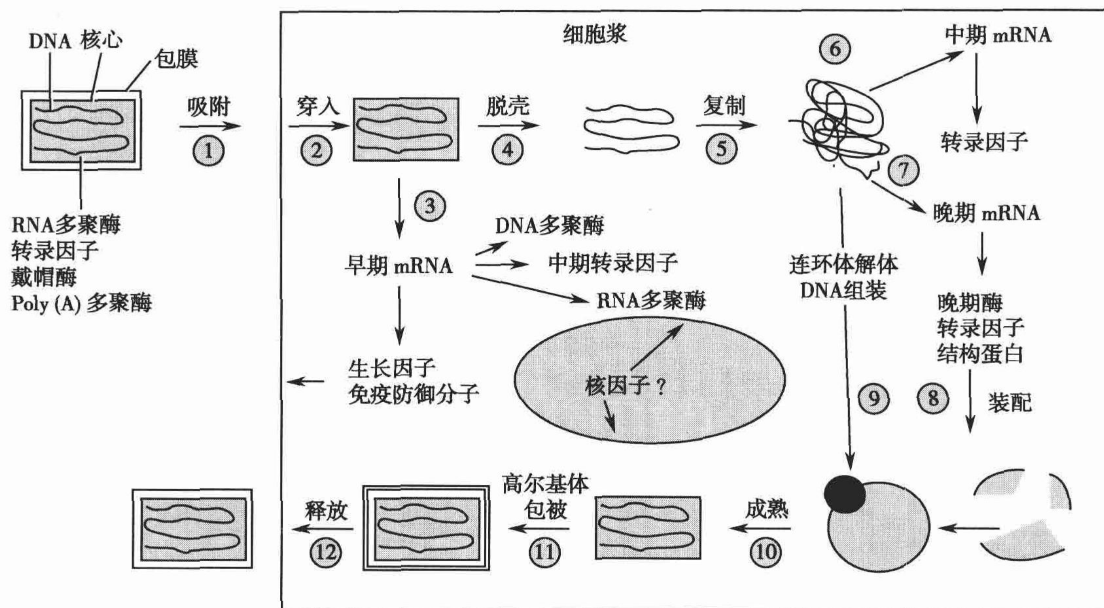


图31-5　痘病毒细胞内复制过程

培养细胞中增殖。正痘病毒感染组织细胞后，可使宿主细胞膜通透性改变，核酸与蛋白质合成受阻，出现明显的细胞病变，在鸡胚绒毛尿囊膜上可形成痘斑，有助于鉴别副痘病毒和巨细胞病毒。

3. 分类与抗原性分型　根据生物学特性将脊椎动物痘病毒亚科分成8个属，感染人的天花病毒、牛痘病毒、痘苗病毒及猴痘病毒等属于正痘病毒属。各属中的成员间都具有遗传和抗原的相关性，且形态相似。痘病毒抗原结构复杂，所有脊椎动物痘病毒均具有共同的核蛋白抗原，属间存在血清学交叉反应；病毒表面抗原和可溶性抗原在同一属病毒中可发生血清学交叉反应，但在不同属病毒间的反应有限，因此，痘苗病毒免疫接种后不能为其他属病毒的感染提供保护。由于痘病毒属间DNA序列相似性低，基因组DNA限制性内切酶酶切分析和DNA序列分析是鉴别痘病毒最准确的方法。

4. 抵抗力　病毒不耐热，加热60℃ 10 分钟、一般消毒剂和紫外线均可使之灭活，但耐干燥和低温，在土壤、痂皮和衣被上可存活数月到1年半，在低温下可存活数年。

二、感染人的主要痘病毒

痘病毒中，除天花病毒和软疣病毒是人类特有的病毒外，其他感染人的痘病毒均为人兽共患病原体。

1. 天花病毒　天花（smallpox，variola）是世界上严重危害人类数千年的烈性传染病，其传染性极强，可通过接触和飞沫传播。天花病毒的靶细胞是上皮细胞和皮下结缔组织细胞，病毒通过与受体结合进入细胞内，在胞浆内增殖后释放入血，引起病毒血症。天花临床表现主要为严重病毒血症（寒战、高热、乏力、头痛、四肢及腰背部酸痛，严重时可出现惊厥、昏迷）、皮肤成批出现离心性皮疹，依次发展成斑疹、丘疹、疱疹、脓疱疹，最后脓疱结痂，痂皮脱落后形成瘢痕，因颜面部大量的皮脂腺被破坏，可遗留明显的凹陷性瘢痕。天花在临床上病情发展极为迅速，未免疫人群感染重型天花后15～20天内死亡率高达30%。

天花病毒只有1个血清型，抗原性稳定；人是唯一的宿主，且感染后可获得终身免疫力。人类通过长期与天花作斗争的过程中，逐步掌握了预防和控制天花的方法，其中我国古代发明的人痘接种术以及18世纪末英国人Jenner发明的牛痘苗为人类彻底根除天花作出了不可磨灭的贡献。经过全世界的共同努力，1980年5月8日WHO正式宣布人类成功消灭天花并建议停止痘苗病毒接种。然而，值得警惕的是，由于停止种痘，人群对天花病毒的免疫力逐渐消失，但世界上仍有少数实验室为研究需要保存有天花病毒，仍有可能发生天花暴发或大流行的潜在危险，甚至有可能被用做生物战剂，必须引起重视。

2. 猴痘病毒　猴痘是一种人畜共患的自然疫源性疾病，主要流行于中非和西非的热带雨林地区。1958年首次在哥本哈根发现该病毒在绿猴中引起一种类似人类天花的疾病，并称之为猴痘；1970年刚果首次报告了猴痘病毒感染人类的病例；2003年美国境内数个州发生人类猴痘暴发。随着世界各国旅游和经济交往的日益频繁，我国也有被蔓延的危险。

该病毒的自然宿主是猴和猿类，兔和小鼠为易感的实验动物。可通过被感染动物咬伤或直接接触有病动物的损伤皮肤或体液传染给人。据报道，美国猴痘流行的传染源来自非洲受感染的土拨鼠。该病毒也可经呼吸道飞沫传播，以及通过与感染患者体液、病毒污染物品（如被褥或衣服）直接接触传播。在人类，猴痘病毒主要感染未接种牛痘疫苗的儿童，症状类似天花，但一般症状较轻，不同的是可引起淋巴结肿大（淋巴结病）。通常潜伏期约12天，起病后表现为发热、乏力、头痛、肌肉痛、淋巴结肿大；一般在3天内头面、躯干或四肢皮肤出现水疱疹，渐发展为脓疱疹，最后干燥结痂，病程约2～4周。非洲的病死率约1%～10%。可通过病毒分离、PCR、电镜或免疫组织化学证实猴痘病毒的存在来确诊。

接种牛痘疫苗对猴痘病毒感染有预防作用。目前美国疾病控制预防中心建议接触感染动物或患者的高危人群应接种牛痘疫苗。

3. 牛痘病毒　该病毒具有较宽的宿主范围，广泛存在于野生啮齿类动物中。牛痘是由该病毒感染牛所致的一种良性疾病，自然条件下只侵犯母牛乳头和乳房的皮肤，一般通过挤乳工人的手或挤乳机而传播。病毒也可感染挤乳工人和与携带牛痘病毒动物有过接触的人，在其手、臂甚至脸部出现痘疱，但不引起全身症状和广泛性皮疹。牛痘在儿童、器官移植以及免疫力低下的患者中也可引起较严重的症状，甚至曾有引起脑炎的报道。牛痘痊愈后，可获得牢固的免疫力，由于抗原性上与痘苗病毒和天花病毒极为相似，感染牛痘后可预防天花。

4. 痘苗病毒（vaccinia virus）　痘苗病毒与天花病毒在外形、大小及抗原性上都极为相似，其用于天花的预防使用了将近两个世纪，对于消灭天花发挥了极为重要的作用。但与天花病毒不同，其毒力低，宿主范围广，能引起人、牛、猪、猴、骆驼、象、绵羊、家兔及鼠类的感染。接种痘苗后可出现类似牛痘的皮肤损害，但在儿童及免疫力低下者也可发生并发症，如种痘后湿疹、紫癜、坏疽痘，以及1/100万的种痘后脑炎等。

1982年Paoletti和Moss研究组将外源基因插入痘苗病毒的胸苷激酶（TK）基因中，首次成功地构建了在哺乳动物细胞中表达外源基因的重组痘苗病毒，成为分子生物学、细胞生物学、免疫学领域以及新型疫苗研究与开发的有效工具。构建重组痘苗病毒时，通常分两步进行：第一步是构建一个含有痘苗病毒非必需区基因的重组质粒，此质粒应带痘苗病毒的启动子，其下游连接外源基因；

第二步是将此质粒导入已有痘苗病毒感染的细胞中，使重组质粒中所含的痘苗病毒非必需区序列与痘苗病毒非必需区序列发生同源重组，外源基因在这一过程中重组到痘苗病毒基因组中，形成重组痘苗病毒颗粒（图31-6）。目前用做真核表达载体的痘病毒，除了痘苗病毒之外，还有禽痘病毒属等不同痘病毒属中的一些病毒种和株。

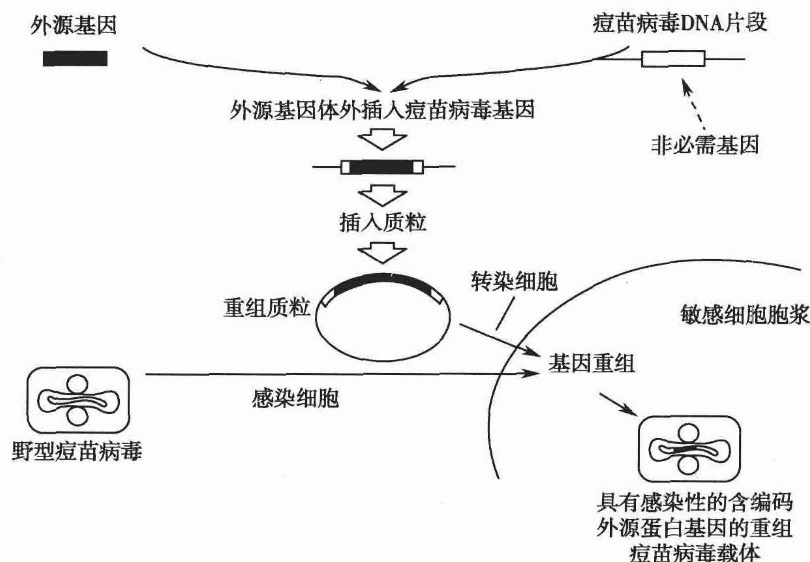


图31-6 重组痘苗病毒载体的构建线路图

5. 人传染性软疣病毒 该病毒是软疣痘病毒属中唯一的正式成员。仅感染人，引起传染性软疣。多发于儿童和青年，一般通过直接接触传染，也可自体接种，成人也能通过性接触传播。传染性软疣可发生于除掌跖外的任何接触部位，在皮肤上产生良性的肿瘤样病变，典型损害为感染局部表皮细胞增生形成软疣结节，直径2～8mm，单发或多发，圆形或半球形，有蜡样光泽，中心呈脐凹状，并含有干酪样栓塞物。病毒一般在上皮的生发层细胞中进行复制，胞浆内可形成含有大量病毒颗粒的“软疣体”。在正常个体中，病毒常引起自限性感染，但在免疫缺陷患者中的感染通常较严重。该病毒能在原代人羊膜细胞、人包皮成纤维细胞、猴肾细胞及HeLa细胞中增殖并产生CPE，但病毒不能连续传代，也无试验动物模型。目前尚无有效的预防与治疗方法。

第三节 细 小 病 毒

细小病毒（parvovirus）是已知最小的DNA病毒，宿主范围从节肢动物到人类，分布非常广泛。细小病毒科（*Parvoviridae*）分为两个亚科，即感染脊椎动物的细小病毒亚科（*Parvovirinae*）和感染节肢动物的浓病毒亚科（*Densovirinae*）。细小病毒亚科包括3个属，即细小病毒属（*Parvovirus*）、红病毒属（*Erythrovirus*）和依赖病毒属（*Dependovirus*）。

细小病毒共同的形态结构特征是无包膜，直径约18～26nm，衣壳二十面体对称，由约32个长3～4nm的壳粒构成，包围着一个分子的单股线状DNA，基因组长约5.6kb，编码VP1和VP2两种衣壳蛋白和一种非结构蛋白。由于基因组小，病毒的复制依赖于宿主或有辅助病毒共感染。细小病毒根据对辅助病毒的需要不同可分成两类：①自主复制病毒，无需辅助病毒即能自行复制，但在DNA复制时，需要正处于有丝分裂过程中的宿主细胞（包括体外培养细胞）某些功能的辅助，包括细小病毒属及红病毒属；②依赖性病毒，其基因组不完备，是一类缺损病毒，腺病毒为其辅助病毒，必须在有腺病毒与之同时存在的条件下，才能复制出有感染性的后代，故又称为腺相关病毒（adeno-associated virus，AAV），该类病毒的致病性目前尚不清楚。

细小病毒对外界理化因素具有很强的抵抗力，能耐受pH3～9的处理，加热56℃ 60分钟不受破坏，对乙醚、氯仿、脂溶剂不敏感。

人类细小病毒B19（human parvovirus B19，B19）属于红病毒属，是目前已知唯一对人类致病的细小病毒，引起儿童传染性红斑（erythema infectiosum，EI）。由Cossart于1975年筛查无症状乙肝患者血清时在B组的19号样品中发现，故名为细小病毒B19。

B19病毒感染呈世界范围分布，约60%以上的成人和90%以上的老年人可检测到B19病毒抗体，但感染多发生于学龄儿童；主要通过呼吸道传播，也可通过血制品或输血传播；妊娠妇女感染后可通过胎盘传给胎儿。约30%～40%的感染者可无临床症状。

B19病毒对人红细胞具有高度亲嗜性。病毒受体为红细胞表面的糖脂抗原（血型P抗原），该抗原成分可表达于红细胞系前体细胞、成熟红细胞、巨核细胞、内皮细胞、胎盘、胎儿肝和心脏。病毒的转录、复制及装配均在宿主细胞核内完成，且病毒不能刺激静止期细胞启动DNA的合成，故宿主细胞代谢的S期是病毒复制所必需的条件。病毒可在新鲜人类骨髓细胞、胎儿肝细胞、红白血病细胞、外周血细胞或脐血细胞内增殖。

B19病毒感染所致的传染性红斑最常见于4～12岁的儿童。病毒经飞沫侵入上呼吸道，在局部增殖后，大量病毒侵入血流形成病毒血症，此时患者出现流感样症状，病毒随患者的呼吸道分泌物排出体外。约经1周后随着特异性抗体生成，病毒血症终止，但病毒与抗体在血循环中形成的免疫复合物，可引起面颊部出现水肿性蝶形红斑，四肢皮肤也可出现对称性边界清楚的花边状或网状斑丘疹，为本病的特征。

成人感染B19病毒后可致多发性关节炎或关节痛；慢性溶血性贫血患者若发生B19病毒感染，可因红系前体细胞大量破坏和网状细胞减少而促发严重的再生障碍性贫血危象；血清抗体阴性的孕妇发生B19病毒感染后，病毒通过胎盘感染胎儿，导致严重贫血及流产，但尚未有证据表明B19病毒可引起先天性畸形。

B19病毒感染的微生物学检查最敏感的方法是检测病毒DNA，可用斑点杂交、原位杂交和PCR方法检测血清、血细胞、组织标本和呼吸道分泌物中的病毒DNA；对传染性红斑和再障危象患者可用ELISA法查病毒特异性IgM，在红疹出现1～2天内多数患者血清中可测出B19 病毒IgM抗体。

对持续性B19病毒感染者，应用含有B19病毒中和抗体的免疫球蛋白制品具有一定的治疗和改善作用。目前尚无有效的抗B19病毒药物，亦无预防疫苗。

第四节 博尔纳病病毒

博尔纳病病毒（Borna disease virus，BDV）是一种高度嗜神经性病毒， 属于博尔纳病病毒科（*Bornaviridae*）。病毒颗粒呈球形，直径100～130nm；内部有一新月形核衣壳。核酸为单股负链RNA，不分节段；有包膜，表面有7nm长的刺突。病毒基因组长8910bp，共有6个开放读码框，分别编码核蛋白（N）、磷蛋白（P）、基质蛋白（M）、包膜糖蛋白（G）、RNA 聚合酶（L）和非糖基化的特殊蛋白（X）。与其他大多数单股负链RNA病毒不同，博尔纳病病毒的复制在宿主细胞核内进行，其基因组中有转录单位及转录信号的重叠、转录连读（transcriptional read through）和转录后剪切等功能，使病毒能利用重叠的开放读码框表达与调节多种蛋白的产生，表现为一种核内低浓度的持续性转录与复制。病毒在细胞内增殖后以出芽方式释放，产生的病毒量少，为非溶细胞性感染，临床上则表现为持续性感染过程。

博尔纳病病毒对脂溶剂（如乙醚、氯仿或丙酮等）、去污剂和紫外线敏感，能耐受pH5～12，加热 56℃ 30分钟可被灭活。

博尔纳病（Borna disease，BD）源自1885年德国Borna镇的马群中所暴发的一种以精神行为异

常为主的致死性马脑炎，后经实验室研究发现该病是由一种RNA病毒感染所致，故将该病毒命名为博尔纳病病毒。研究发现，该病毒感染的宿主范围广，可引起从鸟到灵长类多种动物的中枢神经系统感染，表现为以精神行为异常为主要特征的中枢神经系统功能障碍。

博尔纳病多发生于春夏季节，呈全球性分布，我国也已有报道。病毒可存在于患病动物的涎腺和鼻腔分泌物中，其他动物通过直接接触这些分泌物或被分泌物污染的水和食物而被感染，也可能通过乳汁和血液传播。

动物感染后，病毒先侵犯嗅觉上皮、咽部以及肠道黏膜的神经末梢，然后通过轴突上传至中枢神经系统。此后，病毒又可经轴突下行至外周神经，分布于不同器官中的神经组织中。研究认为，博尔纳病的发病机制与机体的免疫病理反应密切相关，其中细胞免疫应答发挥主要作用。组织病理学检查可见脑内有大量的淋巴细胞、浆细胞和单核细胞浸润，并常发生反应性星形细胞增生。近年，有关博尔纳病病毒对神经细胞的直接致病作用和以改变神经细胞功能等相关研究也有报道。博尔纳病的临床表现以中枢神经功能障碍和精神行为异常为特征，早期主要表现为行为改变、易激惹、步态紊乱；晚期表现为认知障碍、记忆丧失、抑郁、共济失调和部分麻痹等，严重者可致感染动物死亡。

由于博尔纳病病毒的宿主范围广，以及感染动物后可引起以行为异常为主的疾病，提示该病毒感染人类也可能引起神经精神疾病。最近，欧洲、美国、日本和我国台湾等地均报道通过间接免疫荧光试验、ELISA、免疫组化、原位杂交及RT-PCR等方法从精神分裂症、抑郁症、帕金森病、慢性吉兰-巴雷综合征、病毒性脑炎、慢性疲劳综合征等患者血清和外周血淋巴细胞中检测到博尔纳病病毒的特异性抗原、抗体和病毒核酸。这些研究均提示博尔纳病病毒与人类精神分裂症等神经精神疾病密切相关，但博尔纳病病毒感染人类的传播方式、致病机制等尚不清楚。

展　望

随着分子生物学技术的发展及日臻完善，应用基因工程技术，以动物病毒为载体表达外源基因的技术得到普遍地应用。自20世纪80年代以来，重组痘苗病毒作为表达外源基因的载体，受到了科学工作者的高度重视和广泛应用，推动了传染病预防的载体活疫苗以及非传染病基因治疗的应用研究。重组痘苗病毒载体的研究主要包括两个方面：一是高效表达外源基因，获得基因工程多肽产品，如乙肝病毒S基因在痘苗病毒载体系统中已获高效表达，经纯化后已制备成亚单位疫苗；另一方面是制备重组活疫苗。痘苗病毒作为基因重组活疫苗载体，不需佐剂即可免疫动物，病毒在体内增殖过程中产生的外源蛋白可刺激机体产生免疫反应。由于痘苗病毒的基因组容量大，可将不同的外源基因，特别是各种病毒保护性抗原基因一同插入痘苗病毒基因进行表达，可制备出多价基因重组活疫苗，从而达到一次免疫预防多种疾病的目的。目前研究者已在构建重组痘苗病毒和禽痘病毒载体活疫苗方面进行了大量的工作，其中表达狂犬病病毒G蛋白的重组痘苗病毒疫苗已在许多欧洲国家中广泛应用，对消除狐狸狂犬病获得了良好的效果，这些也为根除某些人兽共患病提供了新途径。

基因治疗是20世纪90年代以后发展起来的一种崭新的疾病治疗方式，其通过载体将正常基因或有治疗作用的基因导入靶细胞，纠正先天基因缺陷或合成具有治疗作用的蛋白质，从而达到治疗疾病的目的。目前的基因治疗主要针对使用传统医疗手段还不能彻底治愈的遗传性疾病和各种慢性病，如糖尿病、心血管病、肿瘤等。在用于人类基因治疗的常用病毒载体中，重组腺相关病毒（recombinant adeno-associated virus，rAAV）载体具有感染效率较高，分裂与不分裂期细胞都可感染，目的基因表达持久稳定，在人类不致病，无明显细胞毒性和免疫原性等优点，是目前唯一没有引起人类宿主任何病理反应的病毒载体，已被实验性用于肿瘤和某些遗传性疾病的基因治疗，但诸如纯化、大规模制备、安全性评估等问题仍有待深入研究。

（刘先洲）

第三十二章 朊 粒

朊粒（prion）不是任何形式的病毒、类病毒或卫星病毒，而是一种由正常宿主细胞基因编码的构象异常的蛋白质，不含核酸，具有自我增殖能力和传染性。目前认为，prion是人和动物的传染性海绵状脑病（transmissible spongiform encephalopathies，TSEs），即Prion病的病原体。Prion一词由传染性蛋白粒子（proteinaceous infectious particle）的字头变化而来。1982年美国学者Prusiner发现并证实prion与TSEs高度相关，从而首先提出了prion理论。1997年，Prusiner因发现这一新的致病因子和在prion研究中的卓越贡献而获得诺贝尔生理学或医学奖。

Prions are infectious proteins that differ from all other known infectious pathogens and are believed to be devoid of nucleic acid. The prion concept was proposed by Prusiner in 1982, and the term "prion" derived from proteinaceous infectious particles .The prion protein (PrP) exists in two different conformational forms i.e. cellular prion protein (PrP^c) and scrapie prion protein (PrP^{sc}) . PrP^c is thought to be the normal cellular protein found in healthy cells, and is protease sensitive. However, PrP^{sc} is thought to be the pathogens of transmissible spongiform encephalopathies (prion diseases), and is relatively resistant to proteases. PrP^c is rich in α-helical content and has little β-sheet structure, whereas PrP^{sc} has less α-helical content and abundant β-sheet structure. Both PrP isoforms are encoded by the chromosomal gene located on the short arm of chromosome 20 in human and chromosome 2 in mice. PrP^c is converted into PrP^{sc} through a posttranslational process during which it acquires a high β-sheet content. The mechanism of prion replication is not well understood.

To date, no cell culture system has been devised for the bioassay of prions. Mice and hamsters are commonly used in experimental studies of prion diseases. Prion proteins are highly resistance to many physical and chemical agents including heat, exposure to ionizing or ultraviolet radiation, DNAase, RNAase, formaldehyde and glutaraldehyde.

Prion diseases are characterized in all species by spongiform change, vacuolation of neurons, a proliferation and hypertrophy of astrocytes, and formation of amyloid plaque in the central nervous system. Neither specific antibodies nor cellular immune responses have ever been found in the prion diseases.

The prion diseases include the human diseases Kulu, Creutzfeldt-Jakob disease (CJD), Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome (GSS), and fatal familial insomnia (FFI) and the animal diseases scrapie, chronic wasting disease CWD), transmissible mink encephalopathy, and bovine spongiform encephalopathy (BSE) or "mad cow disease" .

The initial diagnosis of the prion diseases must be made on clinical grounds. Confirmation of the diagnosis can be made by detection of a proteinase K-resistant form of PrP in a Western blot using monoclonal antibodies and polyclonal antibodies to PrP^{sc} in a tissue biopsy. At autopsy, the characteristic amyloid plaques, spongiform vacuoles, and immunohistologically detected PrP^{sc} can be observed. No treatment exists for the prion diseases.

一、生物学性状

人类和多种哺乳类动物的染色体中都存在编码朊蛋白（prion protein，PrP）的基因。人类PrP基因位于第20号染色体的短臂上，小鼠PrP基因位于第2号染色体上。人类PrP基因含两个外显子和1个内含子。外显子1位于5'端，约52～82bp，为非编码外显子，可能与PrP蛋白表达的起始有关。外显子2位于3'端，含编码PrP蛋白的开放读码框（ORF）。内含子约10kb，位于两个外显子之间（图32-1）。在正常情况下，PrP基因编码一个含253个氨基酸的前体蛋白，相对分子质量33～35×10^3，称为细胞朊蛋白（cellular isoform of PrP，PrP^c）。PrP^c是一种糖基化膜蛋白，包括N-末端信号肽序列，五个八肽重复序列区、高度保守的疏水中间区和C-末端糖基化磷脂酰肌醇（glycosyl-phosphatidylinositol，GPI）锚链区。PrP^c在核糖体合成后被转运到粗面内质网和高尔基体内进行翻译后加工，包括切除信号肽、N-端糖基化、二硫键和糖脂锚形成等，产生约含142个氨基酸的成熟的PrP^c，最后转移并通过GPI锚链固定在细胞膜上。PrP^c为正常的细胞蛋白，在中枢神经系统的神经原细胞及星形胶质细胞中均有表达，此外，在外周神经组织、淋巴组织、白细胞和血小板中也有表达，其中淋巴细胞和滤泡树突状细胞（FDCs）中PrP^c的表达水平较高。目前，PrP^c确切的生物学功能尚不清楚，由于其定位在细胞表面，所以可能与细胞的跨膜信号传导或细胞的黏附和识别等有关。PrP^c对蛋白酶K敏感，可溶于非变性去污剂，没有致病性。

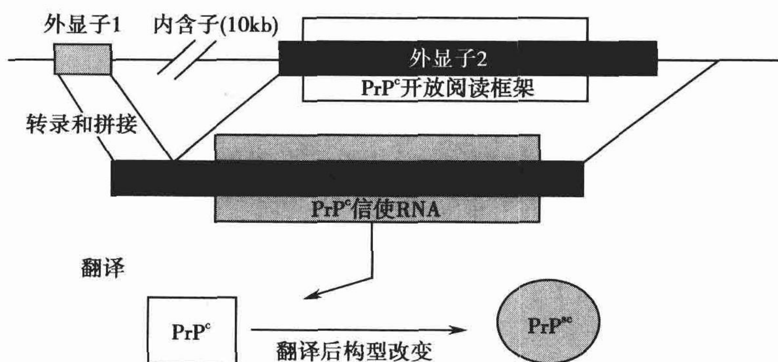


图32-1　PrP基因组结构模式图

在人和动物传染性海绵状脑病的脑组织中大量存在一种PrP^c的异构体，称为羊瘙痒病朊蛋白（scrapie isoform of PrP，PrP^{sc}）。PrP^{sc}是PrP^c的致病形式，相对分子质量27～30×10^3，对蛋白酶有抗性，不溶于去污剂。

PrP^c与PrP^{sc}的一级结构完全相同，但空间结构存在着明显的差异。PrP^c含有约42%的α-螺旋结构和3%的β-折叠结构，而PrP^{sc}则含有30%的α-螺旋结构和43%的β-折叠结构。对重组PrP^c分子的高级结构分析结果显示，PrP^c中有3个α-螺旋和2个短的β-折叠，α-螺旋结构分别位于144～157、172～193、200～227位氨基酸，β-折叠分别位于129～131和161～163位氨基酸。PrP^c在形成PrP^{sc}的过程中α-螺旋减少，而β-折叠增加（图32-2）。

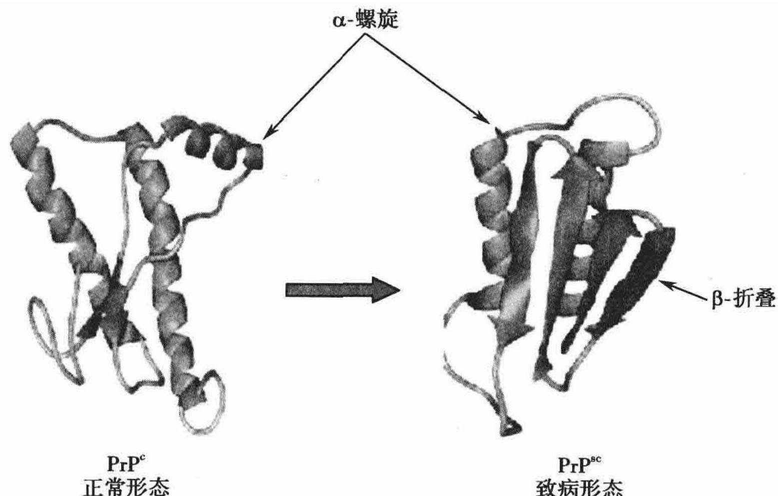


图32-2　PrP^c和PrP^{sc}的三维空间结构

PrP基因突变与遗传性Prion病有关。迄今已发现，人类PrP基因的10余种点突变及一系列的插入突变与遗传性Prion病有关，如PrP基因第102、105、117、129、178、180、198、200、217及213位等密码子突变和51～91位密码子的插入突变等。PrP基因存在多态性，如129位密码子的多态性和219位密码子的多态性等，其中最重要的是129密码子位点上甲硫氨酸（M）和缬氨酸（V）的多态性，目前的研究表明，129位密码子为甲硫氨酸或缬氨酸纯合子比甲硫氨酸/缬氨酸杂合子更容易患家族性CJD。

PrP^c转变为PrP^{sc}的确切机制目前尚未明了。目前较受重视的有“模板学说”和“核聚集学说”（图32-3）。

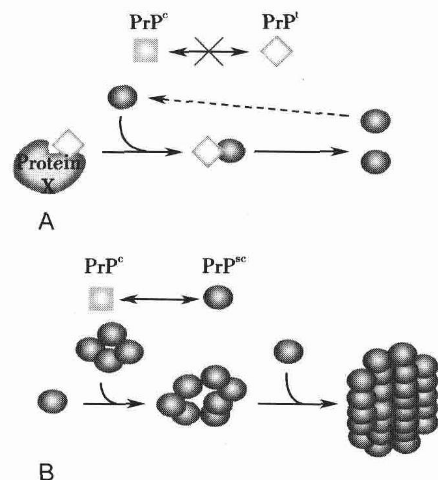


图32-3 PrP^{sc}增殖机制示意图
A.“模板学说”模型；B.“核聚集学说”模型

“模板学说”认为，正常细胞产生的PrP^c分子在随机摆动过程中可发生部分构象变化形成$PrP^\star$，$PrP^\star$是一种中间分子，它既能形成PrP^{sc}，又能回复到PrP^c状态。在正常情况下，PrP^{sc}的形成量很少，不会发生疾病。但在某些情况下，如在有外源性PrP^{sc}分子存在的情况下或在有基因突变造成PrP^c分子不稳定的遗传性Prion病的个体中，PrP^{sc}可起模板作用，催化PrP^c转化成PrP^{sc}，产生PrP^{sc}二聚体。随后二聚体解离，产生的PrP^{sc}单体又可作为模板与PrP^c结合，产生更多的PrP^{sc}，从而完成PrP^{sc}自身的增殖。PrP^{sc}是不溶性的，一旦形成则不可逆转，最终导致大量的PrP^{sc}在神经细胞中聚集和沉淀，引起神经细胞变性和脑组织海绵样变。但是，研究发现直接将PrP^c和PrP^{sc}混合在一起并不能产生新的PrP^{sc}，提示PrP^c向PrP^{sc}转化可能不是一个简单的催化作用，这一过程可能有其他的“分子伴侣”参与，但目前对这些“分子伴侣”的本质尚不清楚，因此将其称为X蛋白（protein X，PrX）。

“核聚集学说” 也称“种子”学说，该学说认为，犹如物质的结晶需要已经形成的细小晶体作为核心一样，PrP^{sc}的聚集也需要一个已经形成的核心充当“种子”。在正常情况下组织中有少量的PrP^c 分子可以自发地转变为PrP^{sc}分子，在没有“种子”存在时，固有的PrP^c和PrP^{sc}之间可发生可逆性的构象变化，维持一种动态平衡。但在适宜的条件下，PrP^{sc}单体可以相互聚集形成低级聚合物充当“种子”，通过黏附其他PrP^{sc}而继续生长，形成更大的聚合物。这些聚合物碎裂后又变成新的种子，重复蛋白的聚集过程，从而产生更多的PrP^{sc}聚集物，并在局部形成淀粉样蛋白沉淀。

Prion对理化因素有强大的抵抗力，传统的消毒剂和消毒方法不能使之灭活。能抵抗蛋白酶的消化作用，用蛋白酶处理后可形成在电镜下具有管状结构淀粉样沉淀；对核酸酶、紫外线和补骨脂素等降解核酸的处理不敏感；对甲醛（18%）、戊二醛、β-丙内脂（1%）、甲醇、乙醇、丙醇、过锰酸钾、碘、过氧乙烯、非离子型或弱离子型去污剂等化学消毒剂不敏感；标准的高压灭菌法和γ射线均不能使之灭活；对乙醚、丙酮和环氧乙烷等中度敏感。目前灭活Prion的方法主要有高压蒸汽灭菌法（134℃至少2小时）或5.25%次氯酸钠、氢氧化钠（4M）、尿素（6～8mol/L）、过氧酸钾（0.01mol/L）处理等。PrP^c与PrP^{sc}的主要生物学特性及致病性比较见表32-1。

目前尚缺乏理想的Prion体外细胞培养模型。但一些起源于神经组织的细胞系，如鼠神经母细胞瘤细胞N2a、鼠嗜铬细胞瘤细胞PC12 等可以支持Prion增殖，感染细胞可以通过蛋白酶抵抗试验或动物传递试验而检测出来。仓鼠、大鼠、小鼠和转基因鼠对Prion敏感，常作为实验动物模型。目前，已知的Prion病大多已建立了感染动物模型。

二、致病性与免疫性

Prion引起的Prion病是一种人和动物的致死性中枢神经系统慢性退行性疾病，目前已知人和动

表32-1　PrP^{c}与PrP^{sc}的主要生物学特性及致病性比较

	PrP^{c}	PrP^{sc}
分子构型	42%的α-螺旋结构	30%的α-螺旋结构
	3%的β-片层结构	43%的β-片层结构
存在部位	正常及感染动物	感染动物
存在形式	单体或二聚体	形成纤维或短杆状的聚合体
对蛋白酶K的抗性	敏感	抗性
对去污剂的溶解性	可溶	不可溶
致病性	无	有
传染性	无	有

物的Prion病有十多种（表32-2）。这类疾病的共同特征是潜伏期长，可达数年至数十年之久，一旦发病即呈慢性进行性发展，最终死亡。病理学特点是中枢神经系统神经元凋亡、弥漫性神经元缺失、星状胶质细胞增生、脑皮质海绵状变性和淀粉样斑块形成等（图32-4、图32-5）。临床上出现痴呆、共济失调、震颤等中枢神经系统症状。

表32-2　人和动物的Prion病

动物Prion病
羊瘙痒病（scrapie of sheep and goat）
水貂传染性脑病（transmissible mink encephalopathy，TMM）
鹿慢性消瘦症（chronic wasting disease of deer，CWD）
牛海绵状脑病（bovine spongiform encephalopathy，BSE）
猫海绵状脑病（feline spongiform encephalopathy，FSE）
人类Prion病
库鲁病（Kuru disease）
克-雅病（Creutzfeld-Jakob disease，CJD）
格斯特曼综合征（Grestmann-Straussler Syndrome，GSS）
致死性家族失眠症（fatal familial insomnia，FFI）
克-雅病变种（variant CJD，v-CJD）

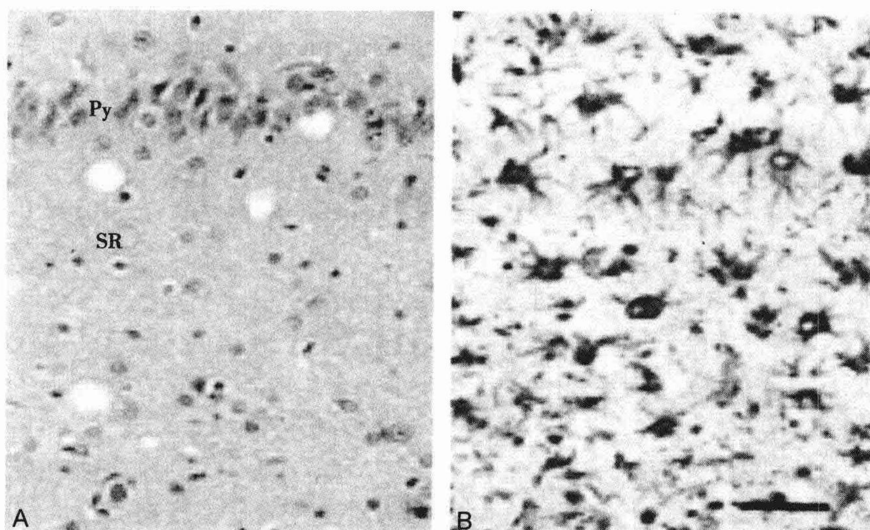


图32-4　羊瘙痒病的神经病理学改变

A. 苏木素和伊红染色显示海马回神经元的海绵状退行性变，并形成10～30μm直径的空泡样变；B. 海马回的免疫组化染色显示大量星形胶质细胞增生

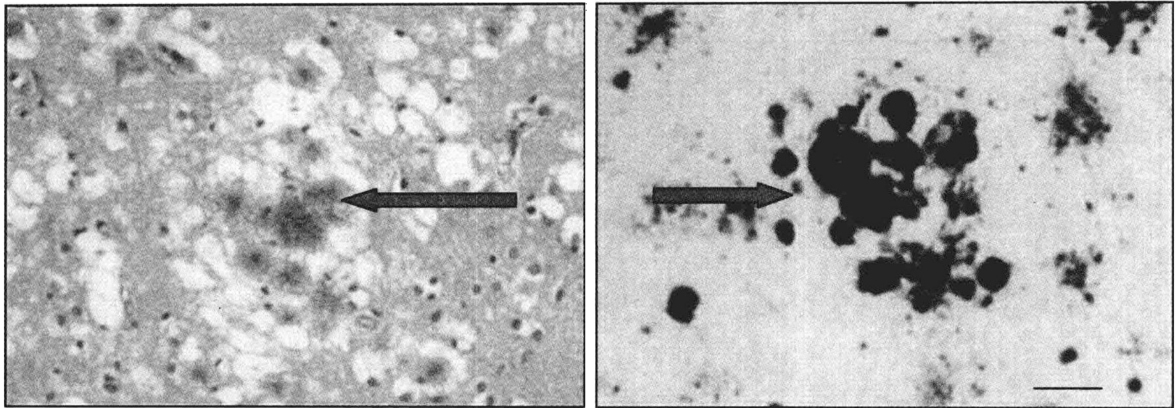


图32-5 v-CJD患者大脑组织切片，海绵状病变及周围的沉淀斑（左）、淀粉样蛋白沉淀（右）

人类Prion病可分为遗传性、传染性和散发性三种类型。遗传性Prion病不需任何传染即可自发发生，其原因是PrP基因发生了突变，突变的PrP基因产生的PrP^{c}可以自发变构成为PrP^{sc}而致病。常见的遗传性Prion病有家族性CJD、GSS和FFI等。传染性Prion病患者的PrP基因并没有异常，其原因是致病性蛋白质进入体内，逐渐将正常蛋白质转化成致病性蛋白质所致，如库鲁病和v-CJD等即为典型的传染性Prion病。散发性Prion病无明显的环境诱因，患者之间也无明显的传播现象，可能与PrP基因过度表达，导致大量的PrP^{c}转变为PrP^{sc}有关。

Prion病的致病机制尚未明了。对传染性Prion病的研究结果提示，致病因子可以通过破损的皮肤、黏膜或消化道进入机体，在附近淋巴结增殖后，再扩散到脾脏、阑尾及派氏结（Peyer's Patches）等淋巴组织中累积，最后通过内脏神经到达中枢神经系统，产生神经毒性，最终导神经系统的退行性病变。此外，有人认为致病因子也可不经淋巴组织而沿外周神经直接进入脊髓。

Prion分子量小，免疫原性低，免疫系统不能识别氨基酸序列完全一致但构象不同的两种蛋白质，因此，被感染的人或动物不产生特异性抗体和细胞免疫反应。

1. 羊瘙痒病　羊瘙痒病（scrapie of sheep and goat）是第一个被发现的动物Prion病，在绵羊和山羊中流行。1732年英国首次报道本病，此后，陆续在欧洲其他养羊国家有报道。目前，亚洲、欧洲和美洲均发现羊瘙痒病病例。本病潜伏期1～3年，感染羊只表现为消瘦、步态不稳、脱毛、麻痹等，并因患病羊只由于瘙痒而常在围栏上摩擦身体而得名。该病易于在羊群中传播，但传播机制至今仍不清楚。

2. 牛海绵状脑病　牛海绵状脑病（bovine spongiform encephalopathy，BSE）是一种新出现的Prion病，1986年在英国首次发现，此后迅速蔓延，在欧洲广为流行。目前，美国、加拿大、日本等国家也有报道，但中国尚未发现此病。该病潜伏期4～5年，主要临床表现为运动失调、震颤、感觉过敏、恐惧甚至狂乱，因此俗称"疯牛病（mad cow disease）"。已证实，疯牛病的起源与牛食用了被羊瘙痒病致病因子污染的动物肉骨粉饲料有关。1988年7月英国政府立法禁止用反刍动物来源的饲料喂养牛只后，疯牛病的发病率已显著下降。

3. 库鲁病　库鲁病（Kuru disease）是一种人类的Prion病，1957年美国科学家Gajdusek和Zigas首次报道本病。库鲁病仅见于巴布新几内亚东部高地讲Fore语的土著人中。在Fore语中kuru为震颤的意思，本病以寒战样震颤为突出的临床表现而得名。Kuru病潜伏期很长，可达4～30年之久，但一旦发病则迅速发展，表现为痴呆，肢体瘫痪，最终因吞咽困难、衰竭、感染而死亡。库鲁病的传播与当地土著人在祭奠亡灵时有食尸的宗教习俗有关，病原体通过破损的皮肤、黏膜和胃肠道而传播。因参加食尸者主要是妇女和儿童，故妇女及儿童的发病率较高。20世纪50年代末，随着这一原始恶习终止，库鲁病也随之逐渐消失。

4. 克-雅病　克-雅病（Creutzfeld-Jakob disease，CJD）又称为皮质-纹状体-脊髓变性病

(corticostriatospinal degeneration),为人类最常见的Prion病。1920年和1921年,Creutzfeldt和Jakob两位神经病理学家先后报道了此病,因而被命名为克-雅病。本病呈全球性分布,发病率约百万分之一,我国也有本病存在。患者多为中老年人,平均发病年龄65岁。潜伏期可长达1~20年,最长可达40年以上。典型的临床表现为迅速进展的痴呆,肌阵挛,皮质盲,小脑共济失调,运动性失语,偏瘫、癫痫甚至昏迷,患者最终死于感染或自主神经功能衰竭。约90%的患者于1年内死亡。

根据病因的不同可将CJD分为散发性,家族性或医源性三种类型。散发性CJD约占85%,原因不明。家族性CJD约占CJD的10%~15%,表现为常染色体显性遗传。患者家族中均有PrP基因突变,目前已发现有多个点突变和重复片段插入,最常见的疾病相关突变是第102位密码子(pro-leu)突变、第178位密码子(Asp-Asn)突变、第200位密码子(glu-lys) 突变等、第48位和第56位密码子处有重复片段的插入、多伴有129位缬氨酸纯合子。医源性CJD为传染性Prion病,与Prion污染临床诊疗过程有关,如医疗器械消毒不严、脑深部电极、角膜移植、器官移植或使用从尸体脑垂体提取的含Prion的生长激素和促性腺激素等。

5. 克-雅病变种 克-雅病变种(variant CJD,v-CJD)是近年来出现在以英国为主的欧洲国家的一种新型的人类Prion病,1996年由英国CJD监测中心首次报道。此后,在法国、德国、爱尔兰、俄罗斯等欧洲国家亦先后发现了病例。本病的好发年龄、临床特征与典型CJD均有明显不同。发病年龄在42岁以下,中位年龄29岁,最小者仅15岁。临床表现以行为改变、运动失调和周围感觉障碍为主。脑电图与影像学及病理改变等与典型CJD也有明显的差异,因而被认为是CJD的新变种(new variant CJD,v-CJD)。进一步的研究结果显示,从这些病例中提取的PrP^{sc}与来源于BSE的PrP^{sc}的性质相同,患者脑组织的病理变化与BSE相似,从而表明v-CJD与疯牛病密切相关。现在普遍认为v-CJD的发生与人类的食物链中含有疯牛病的致病因子有关,但确切的致病机制尚不清楚。研究发现,致病因子可通过消化道进入人体,先在肠道局部的淋巴组织中增殖,再出现于脾脏和扁桃体等处,最后定位于中枢神经系统引起疾病。

6. 格斯特曼综合征 格斯特曼综合征(Gerstmann-Straussler Syndrome,GSS)是一种罕见的传染性海绵状脑病,为常染色体显性遗传性疾病,主要与PrP基因102位密码子(Pro-Leu)突变有关。此外亦可为117位密码子(Ala-Val)突变和198位密码子(Phe-Ser)突变等。发病年龄在24~66岁,平均病程为5年。病理特征为脊髓小脑束和皮质脊髓束变性,广泛淀粉样沉积和海绵样变。临床表现为脊髓小脑性共济失调和痴呆。

7. 致死性家族性失眠症 致死性家族性失眠症(fatal familial insomnia,FFI)是1992年确认的另一种遗传性传染性海绵状脑病。为常染色体显性遗传病,表现为PrP基因第178密码子(Asp-Asn)突变,第129位密码子多为甲硫氨酸纯合子,与遗传性GJD的129位密码子多为缬氨酸纯合子不同。病理特征为丘脑前核和背内侧核神经元丧失和神经胶质细胞增生,但海绵状病变少见。临床表现主要为进行性加重的失眠、运动失调、精神异常和内分泌紊乱等,痴呆却较少见。

三、微生物学检查法

目前Prion病的临床诊断主要根据流行病学、临床表现、中枢神经组织特征性病理学变化、脑脊液标志性14-3-3蛋白和血清S100蛋白检测等。病原学确诊需通过免疫学试验或分子遗传学分析。

1. 免疫组化技术 是目前确诊Prion病最可靠的诊断方法。将脑组织或淋巴组织切片用甲醛固定及石蜡包埋后,用蛋白酶K处理以破坏PrP^{c},然后再用PrP^{sc}特异性单克隆抗体或多克隆抗体作免疫酶染色,检测组织标本中对蛋白酶K有抗性的PrP^{sc}。

2. 免疫印迹技术 (Western blot) 是目前国际上诊断Prion病最常用的检测方法。先将脑组织匀浆用蛋白酶K处理,电泳后转印到硝化纤维素膜上,再用PrP^{sc}特异性抗体检测PrP^{sc}。

3. ELISA技术 目前用两种识别PrP^{sc}不同位点的夹心ELISA法或化学发光ELISA法检测脑组织悬液或脑脊液中存在的PrP^{sc}也已广泛应用于Prion病的病原学诊断。

4. 蛋白质错误折叠循环放大（protein misfolding amplification，PMCA）技术　该技术是根据PrP^{sc}增殖的模板学说而设计的。将大量的PrP^{c}与感染组织共孵育，若感染组织中存在微量的PrP^{sc}时，这些微量的PrP^{sc}可以作为模板，使PrP^{c}转变为PrP^{sc}，PrP^{sc}二聚体经超声处理后形成单体，然后再孵育。经重复孵育和超声处理后，标本中的PrP^{sc}含量大幅度增加，大大提高了检测的灵敏度。

5. 基因分析　从患者外周血白细胞中提取DNA，对PrP基因进行分子遗传学分析，以发现突变基因，协助诊断家族性Prion病。

四、防治原则

迄今对Prion病尚无疫苗可供免疫预防，也缺乏有效的治疗方法。目前主要是针对本病的可能传播途径采取预防措施。

1. 医源性Prion病的预防　对患者的血液、体液，及手术器械等污染物应进行彻底消毒，彻底销毁含致病因子的动物尸体、组织块或注射器。常用的理化方法有：134℃高压灭菌至少2小时，1mol/L NaOH浸泡污染物1小时，5.2%次氯酸钠处理2小时等方法可使其丧失传染性；严禁Prion病患者和任何退行性神经系统疾病患者的组织和器官用于器官移植；医护人员在诊疗过程中应严格遵守安全规程，加强防范意识，注意自我保护。

2. BSE及v-CJD的预防　禁止用动物的骨肉粉作为饲料喂养牛羊等反刍类动物，以防止致病因子进入食物链。对从有BSE的国家进口的活牛或牛制品，必须进行严格的特殊检疫，防止输入性感染。

展　望

1982年Prusina提出的Prion学说是一个超出经典病毒学和生物学范围的全新概念，是继反转录病毒发现后对“生物中心法则”的又一有力的挑战。这一学说的确立将丰富或改变人类对生命本质的认识。因此，近20年来，Prion和Prion病已成为医学和生物学领域的研究热点。然而，尽管进行了大量研究，并取得了重大进展，但仍有大量问题没有解决。目前对Prion的性质、PrP^{c}的正常生理功能、PrP^{c}向PrP^{sc}的转化机制、PrP^{sc}进入中枢神经系统的具体过程、PrP^{sc}神经毒性的分子机制等关键问题尚不清楚，这些问题的阐明不仅可以为最终确立Prion理论提供科学依据，也可为Prion病及其他神经退行性构象病的诊断和治疗研究提供新的思路和方法。

确诊Prion病最可靠的检测方法是脑组织病理学检查和在标本中检测到感染性PrP^{sc}，前者只用于脑组织标本的检测，而后者则需要特异性PrP^{sc}抗体，长期以来，这些条件成为研制Prion病早期快速诊断技术的生物技术障碍。近年来，随着PrP^{sc}特异性单克隆抗体的研制成功，Prion病的诊断方法已取得突破性进展。目前，用PrP^{sc}特异性单克隆抗体建立的免疫印迹、ELISA和免疫荧光技术已成为国际通用的检测方法，但这些方法的敏感性尚不理想。目前研究的重点是发展可用于检测体液和脑脊液中微量PrP^{sc}的特异性强、敏感性高和有早期诊断意义的检测方法。据报道，居于血浆纤维蛋白酶原可选择性黏附PrP^{sc}的原理而设计的磁珠黏附法、根据免疫竞争原理设计的荧光标记PrP^{sc}特异性肽链的毛细管电泳免疫测定法、运用共聚焦双色荧光相关技术的双色强荧光目标扫描法等多种新型检测技术可检出脑脊液或血液中极微量的PrP^{sc}，特异性高，具有很好的应用前景。Prion检测技术的发展将为Prion的生物学特性和致病机制研究开辟广阔的前景。

Prion病至今仍没有有效的治疗手段，患病的人和动物终将死亡，因此，Prion病的治疗是国际上的研究热点。由于Prion病的发病过程伴随着PrP^{c}向PrP^{sc}的转化，因此，Prion病治疗的总体思路是通过抑制转化、降低PrP^{sc}的稳定性或抑制PrP^{sc}的积累等手段来达到治疗的目的。目前已经发现了一些能够在细胞模型上抑制PrP^{sc}积累的药物，如多阴离子化合物如右旋糖苷、多烯类抗生

素如两性霉素 B 及其衍生物、溶酶体刺激剂和半胱氨酸蛋白酶抑制剂等。此外，还发现奎纳克林（quinacrine）和氯丙嗪（chlorpromazine）能缓解Prion病的早期症状，延缓疾病的进程，但是，这些药物还都在实验阶段，距临床应用尚有相当距离。

（江丽芳）

第三篇 真 菌 学

第三十三章 真菌学概述

真菌（fungus）是一类具有典型细胞核和细胞壁的真核细胞型微生物。真菌的细胞结构比较完整，细胞核高度分化，有核膜和核仁，并有由DNA和组蛋白组成的线状染色体。真菌的细胞质内有多种细胞器，如线粒体、内质网、高尔基复合体等。真菌的细胞壁由几丁质或纤维素组成，不含叶绿素，没有根、茎、叶的分化。大部分真菌为多细胞结构，少数为单细胞结构。真菌可以通过无性或有性方式进行繁殖。因真菌无叶绿素，故能进行异养生活，多数为腐生，少数为寄生或共生。

真菌在自然界分布广泛、种类繁多、数量较大，目前已有一万个属、数十万种之多。真菌含有丰富的淀粉酶和蛋白酶，在自然界的物质循环中起着重要作用，与人类的关系非常密切。许多真菌对人类有益，已广泛应用于医药、食品、化工和农业等领域，如酿酒、发酵、生产抗生素和酶剂等，具有重要的经济价值。但有些真菌可导致食品、农产品、饲料、衣物等发生霉变，少数真菌还可引起人类及动、植物疾病。目前已知的与医学有关的真菌约400余种，常见的有50～100种，可引起人类感染性、中毒性及超敏反应性疾病，甚至与某些肿瘤的发生有关。

在分类学上，真菌已与动物界、植物界并列成为真菌界（Kingdom Fungi）。真菌界分为黏菌门（Myxomycota）和真菌门（Eumycota）。与医学有关的真菌主要分布在真菌门。真菌门又根据其生物学性状传统地分为鞭毛菌亚门（Mastigomycotina）、接合菌亚门（Zygomycotina）、子囊菌亚门（Ascomycotina）、担子菌亚门（Basidiomycotina）及半知菌亚门（Deuteromycotina, or Imperfect fungi）。与医学有关的真菌是后4个亚门：①接合菌亚门：菌丝无隔、多核菌丝体，无性孢子为孢囊孢子，有性孢子为接合孢子，属于机会致病菌。如毛霉属（*Mucor*）、根霉属（*Rhizopus*）、犁头霉属（*Absidia*）等；②子囊菌亚门：具有子囊和子囊孢子，大多为腐生性真菌，少数为机会致病菌。如芽生菌属（*Blastomyces*）、组织胞浆菌属（*Histoplasma*）、小孢子菌属（*Microsporum*）、毛癣菌属（*Trichophyton*）及酵母菌属（*Saccharomyces*）等；③担子菌亚门：菌丝有隔，有性孢子为担孢子。包括蘑菇、灵芝、银耳、猪苓、马勃等食用真菌和新生隐球菌（*Cryptococcus neoformans*）等机会致病菌；④半知菌亚门：由于对此类真菌生活史了解不完全，未发现其有性阶段，故称为半知菌。此类真菌的菌丝有隔，无性孢子为分生孢子。在医学上有重要意义的真菌绝大部分在半知菌亚门中，如球孢子菌属（*Coccidiodes*）、假丝酵母属（*Saccharomyces*）、青霉属（*Penicillium*），曲霉属（*Aspergillus*）和各种皮肤癣菌（Dermatophytes）。最新的真菌分类是把真菌界分为4个门，即接合菌门（Zygomycota）、担子菌门（Basidiomycota）、子囊菌门（Ascomycota）及壶菌门（Chytridiomycota），而把属于半知菌亚门中的真菌划分到前3个门中，并取消了黏菌。

Fungi are eukaryotic microbiology with typical nucleus and cell wall. The structure of fungal cell is relatively complete with nuclear membrane, nucleolus and linear chromosomes composed of DNA and

histone. There are a variety of organelles such as mitochondria, endoplasmic reticulum, Golgi complex and so on within the fungal Cytoplasm. The fungal cell Wall is composed of Chitin or cellulose, does not contain chlorophyll, and without differentiation of roots, stem and leaf. Most fungi are multicellular and fewer are unicellular. Fungi can reproduce in asexual or sexual manner. Because of without chlorophyll, Fungi could carry out heterotrophic life, most in saprophytic and minority in parasitic or symbiotic.

Fungi are nonphotosynthetic growing as a mass of branching, interlacing filaments ("hyphae") known as a mycelium. The entire organism is thus a coenocytes (a multinucleated mass of continuous cytoplasm) confined within a series of branching tubes. These tubes, made of polysaccharides such as chitin, do not form a mycelium but are easily recognized as fungi by the nature of their sexual reproductive processes and by the presence of transitional forms. All fungi are eukaryotic organisms, and each fungal cell has at least one nucleus and nuclear membrane, endoplasmic reticulum, mitochondria, and secretory apparatus. Most fungi are obligate of facultative aerobes. They are chemotrophic, secreting enzymes that degrade a wide variety of organic substrates into soluble nutrients, which are then passively absorbed or taken into the cell by active transport.

There are more than 1000000 species of fungi, but most are beneficial to humankind. They reside in nature and are essential in breaking down and recycling organic matter. Some fungi greatly enhance our quality of life by contributing to the production of food and spirits. Other fungi have served medicine by providing useful bioactive secondary metabolites such as antibiotics and immunosuppressive drugs (e.g., cyclosporine). Fungi have been exploited by geneticists and molecular biologists as a model system for the investigation of a variety of eukaryotic processes. Fortunately, only a few hundred species of fungi have been implicated in human disease, and 90% of human infections can be attributed to a few dozen fungi.

The major taxonomic groups of medicine are listed below. Zygomycetes: sexual reproduction results in a zygospore; asexual reproduction occurs via sporangia. Vegetative hyphae are sparsely septate. For examples: *rhizopus*, *absidia*, *mucor*, *pilobolus*. Ascomycetes: sexual reproduction involves a sac or ascus in which karyogamy and meiosis occur, producing ascospores. Asexual reproduction is via conidia. Molds have septate hyphae. *Ajellomyces* (anamorphic genera, blastomyces, histoplasma), *arthroderma* (anamorphic genera, mi-crosporum, trichophyton), and yeast genera such as *saccharomyces* belong to Ascomycetes. Basidiomycetes: sexual reproduction results in four progeny basidiospores supported by a club-shaped basidium. Hyphae have complex septa. This kind of fungi includes *filobasidiella neofonnans* and *cryptococcus neofonnans*. Deuteromycetes: this is an artificial grouping of the imperfect fungi for which a teleomorph or sexual reproduction has not been discovered. The anamorphic state is characterized by asexual conidia, such as *coccidioides immitis*, *paracoccidioides brasiliensis*, *candida albicans*.

In the latest classification, fungi are divided into four phylums: Zygomycotina, Basidiomycotina, Ascomycotina and Chytridiomycota. The fungi belonging to Deuteromycetes are divided into the former 3 phylums and Myxomycetes is removed.

第一节 真菌的生物学性状

真菌的形态多种多样，小到用普通光学显微镜放大数百倍才能观察到的白假丝酵母、新生隐球菌，大到肉眼可见的木耳、蘑菇等。单细胞真菌呈圆形或卵圆形，如酵母菌（yeast）。多细胞真菌由菌丝和孢子组成，交织成团，称丝状真菌（filamentous fungus）或霉菌（mold）。少数真菌在不同的环境条件下（如营养、化学因素、温度和氧气等）可以发生两种形态互变，被称为双相型真菌

(dimorphic fungus)，如组织胞浆菌、球孢子菌等，当他们在宿主体内时呈酵母相，在普通培养基上、25℃培养时则呈菌丝相。这种相的转换与其致病性有着密切的关系。

一、真菌的形态

（一）单细胞真菌

呈圆形、椭圆形或圆柱形，形态较为简单。包括酵母型和类酵母型真菌。

1. 酵母型真菌　长5～30μm，宽3～5μm，不产生菌丝，由母细胞以芽生方式繁殖（图33-1A），其菌落与细菌的菌落相似。

2. 类酵母型真菌　以芽生方式繁殖，其延长的芽体可伸进培养基内，称假菌丝（pseudohypha）（图33-1B）。其菌落与酵母型真菌相似，但在培养基内可见由假菌丝联结形成的假菌丝体，称为类酵母型菌落。

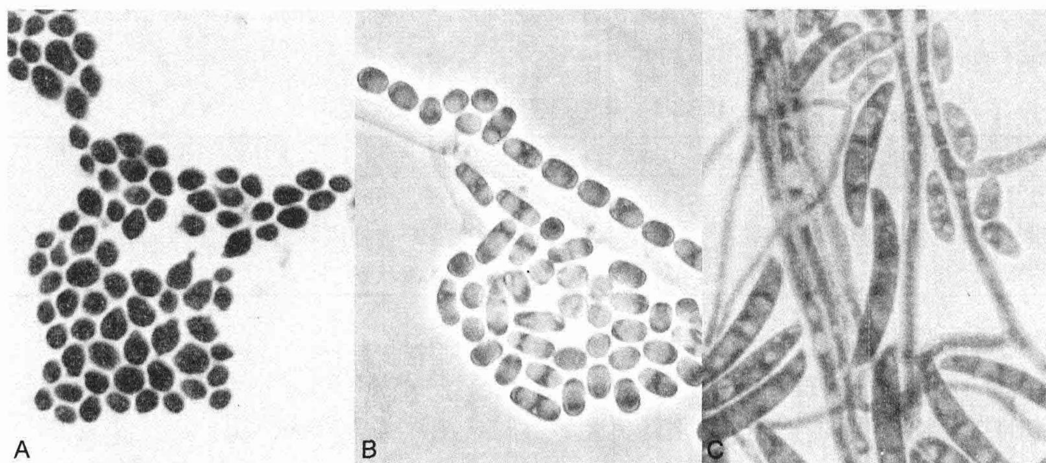


图33-1　真菌的形态（×400）

（二）多细胞真菌

多细胞真菌的形态较复杂，由菌丝（hypha）和孢子（spore）两大基本结构组成（图33-1C）。

1. 菌丝（hypha）　由成熟的孢子在基质上生出嫩芽，称为芽管，芽管逐渐延长呈丝状，称为菌丝，横径一般为5～6μm。菌丝可长出许多分枝。交织成团，称菌丝体（mycelium）。显微镜下菌丝的形态不同，如螺旋状、球拍状、结节状、鹿角状、破梳状等，可作为鉴别真菌的重要标志（图33-2）。

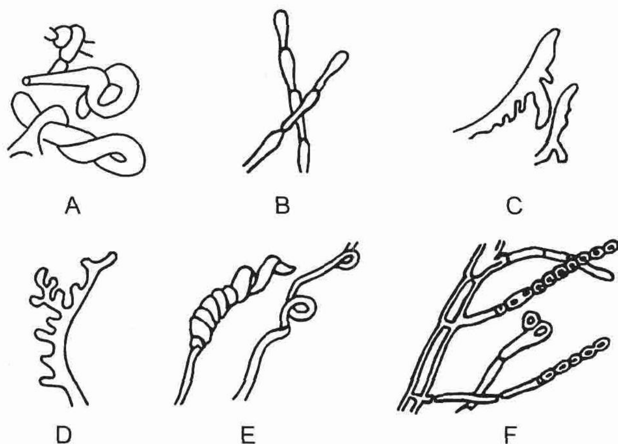


图33-2　真菌的各种菌丝形态
A. 结节状菌丝；B. 球拍状菌丝；C. 梳状菌丝；D. 鹿角状菌丝；E. 螺旋状菌丝；F. 关节状菌丝

根据菌丝结构，分为有隔菌丝和无隔菌丝（图33-3）。①有隔菌丝（septate hypha）：菌丝在一定的间距形成横膈，称之为隔膜（septum），它把菌丝分成多个细胞，每一个细胞含有一个至数个核，隔膜中有小孔，可使细胞质与核从一个细胞流入另一个细胞。绝大部分的病原性丝状真菌都为有隔菌丝，如皮肤癣菌、曲霉等；②无隔菌丝（nonseptate hypha）：菌丝中无横膈，但其内有多个核，整条菌丝就是一个多核单细胞，如毛霉和根霉。

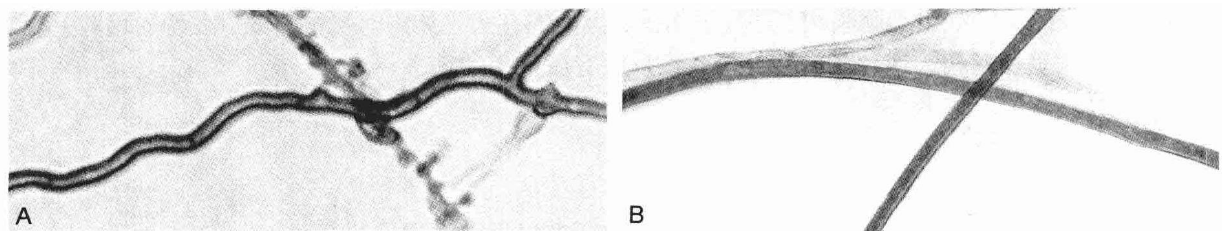


图33-3 真菌的有隔菌丝和无隔菌丝（×400）

根据菌丝功能，可分为以下3类。①营养菌丝（vegetative mycelium）：是指伸入到培养基内或从被寄生的组织中吸取营养物质的菌丝；②气生菌丝（aerial mycelium）：是指向空气中生长的菌丝；③生殖菌丝（reproductive mycelium）：是指气生菌丝体中发育到一定阶段可产生孢子的那部分菌丝。

2. 孢子（spore） 孢子是真菌的繁殖结构，是由生殖菌丝产生的一种繁殖体。真菌孢子和细菌的芽胞的英文名均为“spore”，但两者的生物学特性是截然不同的，它们的主要区别见表33-1。孢子也是真菌鉴定和分类的主要依据。

表33-1 真菌孢子和细菌芽胞的区别

真菌孢子	细菌芽胞
1. 抵抗力不强，60～70℃短时即死	抵抗力强，短时间煮沸不死
2. 一条菌丝可形成多个孢子	一个细菌只能形成一个芽胞
3. 真菌的繁殖结构	细菌的休眠状态

真菌的孢子分为无性孢子和有性孢子两大类。

（1）无性孢子（asexual spore）：是指不经过两性细胞的接合而产生的孢子。病原真菌大多数产生无性孢子，大体可分为3种（图33-4）：

1）叶状孢子（thallospore）：是在生殖菌丝内直接形成的孢子，有下列3种类型：①芽生孢子（blastospore），是通过生殖菌丝体以细胞发芽方式形成的圆形或卵形的孢子。许多真菌，如白假丝酵母、小球类酵母菌、圆酵母菌等皆可产生芽生孢子；芽生孢子长到一定大小大多与母细胞脱离，若不脱离而相互连接成链就被称为假菌丝；②关节孢子（arthrospore），由生殖菌丝细胞分化形成隔膜且断裂成长方形的几个节段，胞壁稍增厚。多出现于陈旧培养物中；③厚膜孢子（chlamydospore），由生殖菌丝顶端或中间部分变圆，胞质浓缩，胞壁加厚而形成。大多数真菌在不利的环境中都能形成厚膜孢子，并使真菌本身代谢降低，抵抗力增强，是真菌的一种休眠形态；在适宜的条件下厚膜孢子可再发芽繁殖。

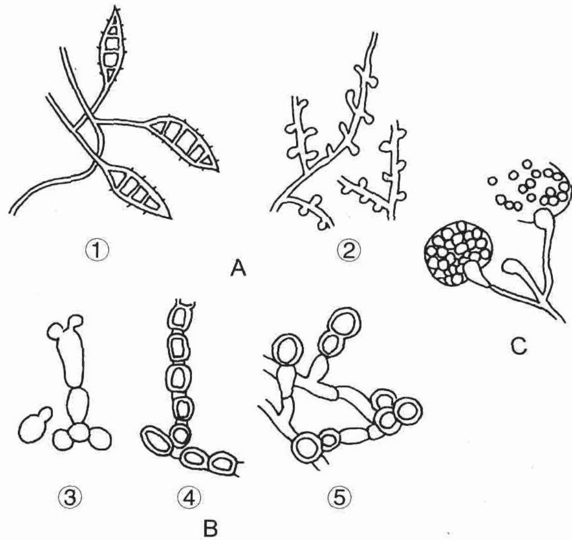


图33-4 真菌无性孢子形态
A. 分生孢子 (1)大分生孢子 (2)小分生孢子 B. 叶状孢子 (3)芽生孢子 (4)关节孢子 (5)厚膜孢子 C. 孢子囊孢子

2）分生孢子（conidium）：由生殖菌丝末端及其分支的细胞分裂或浓缩形成的单个、成簇或链状的孢子，是真菌常见的一种无性孢子，有大小之分：①大分生孢子（macroconidium），体积较大，由多个细胞组成，呈纺锤形、梭形或梨形（图33-5）。常根据其形状、大小、结构、颜色等作为分类、鉴定的依据；②小分生孢子（microconidium），体积小，一个孢子即为一个细胞，壁薄，有球形、卵形、梨形以及棍棒状等各种不同形状（图33-6）。因大多数多细胞真菌都能产生小分生孢子，故

小分生孢子对真菌的鉴别意义不大。

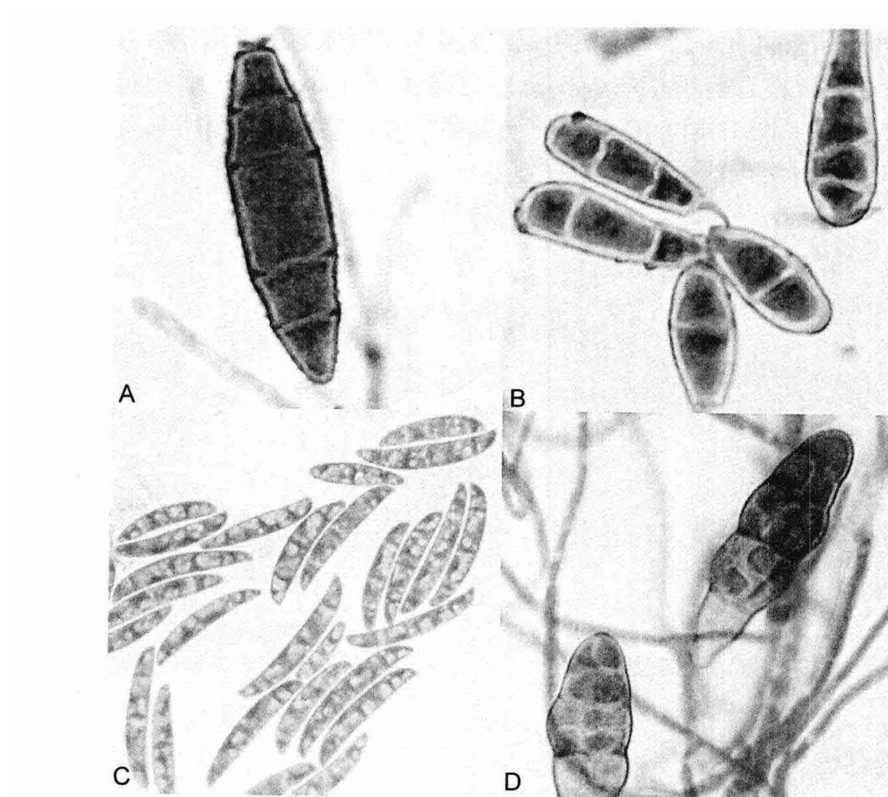


图33-5　真菌的大分生孢子形态

A. 纺锤形（小孢子菌）；B. 棍棒状（表皮癣菌）；C. 镰刀形（镰刀菌）；D. 砖型（链格孢霉）

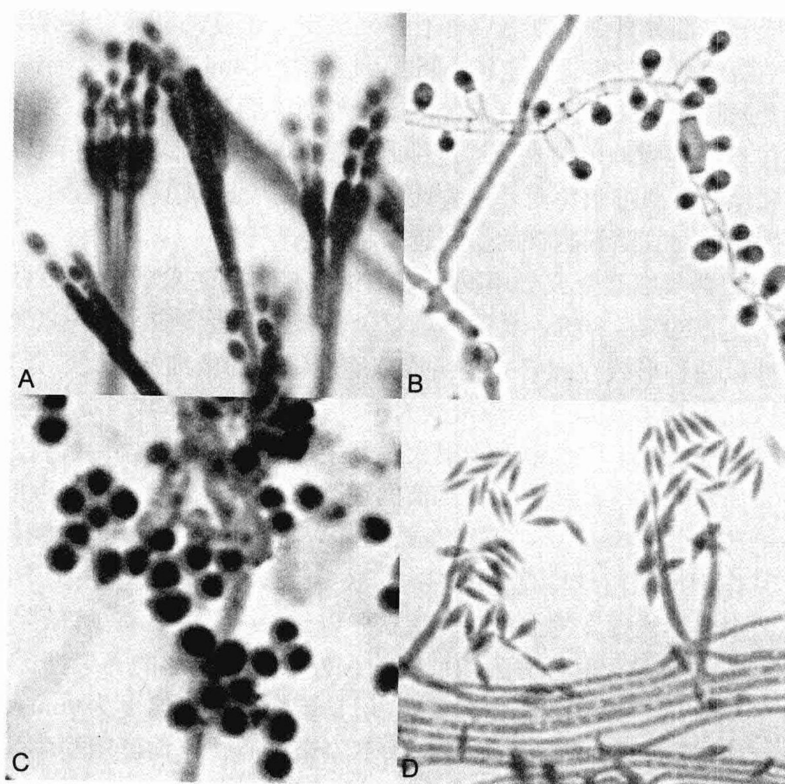


图33-6　真菌的小分生孢子形态

A. 卵形（青霉）；B. 梨形（毛癣菌）；C. 球形（毛癣菌）；D. 梭形（枝顶孢霉）

3）孢子囊孢子（sporangiospore）：由菌丝末端形成一种囊状结构即孢子囊，内有许多孢子称为孢子囊孢子（图33-7）。孢子成熟后破囊散出，如毛霉、根霉等均能形成孢子囊孢子。

（2）有性孢子（sexual spore）：是由同一菌体或不同菌体的两个细胞或性器官融合，经减数分裂后所产生的孢子。有接合孢子（zygospore）、子囊孢子（ascospore）、担孢子（basidiospore）及卵孢子（oospore）4种（图33-8）。有性孢子绝大多数为非致病性真菌所具有，目前观察到半知菌亚门中有些真菌也有有性繁殖阶段，但为数不多。

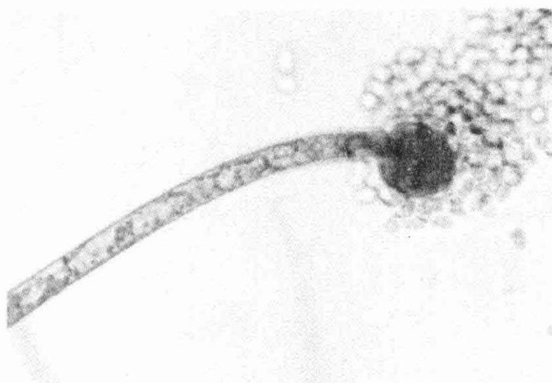


图33-7 真菌的孢子囊和孢子囊孢子

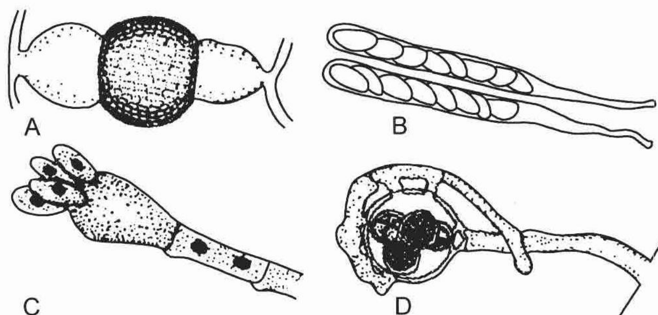


图33-8 真菌有性孢子的形态
A. 接合孢子；B. 子囊孢子；C. 担孢子；D. 卵孢子

二、真菌的结构

真菌的细胞结构比细菌复杂，具有典型的真核细胞结构。但真菌也有一些有别于其他真核细胞的特征性结构，如含有特殊成分与结构的细胞壁，以及结构特殊的隔膜等。了解真菌的结构有助于了解真菌的致病机制，并为真菌病的诊断、治疗及预防提供重要的依据。

1. 细胞壁外成分　部分真菌在细胞壁外有一层低电子密度的黏液，其化学成分和功能与细胞壁完全不同。如新生隐球菌的荚膜，在电镜下可见到直径3～4nm的微细纤维，呈放射状伸出细胞壁，由甘露醇、木糖及尿苷酸等酸性多糖组成，该成分与新生隐球菌的毒力、致病性均有密切关系。

2. 细胞壁　位于细胞膜外层，真菌通过细胞壁从外界摄取营养，进行细胞内外物质交换有关；能维持真菌形态和保护真菌细胞免受外界渗透压的影响；是组成真菌重要的抗原成分。因其具备以上多种功能，因而目前对真菌细胞壁的研究越来越深入。

（1）化学组成：真菌细胞壁成分不同于细菌细胞壁，它主要成分是多糖而不是肽聚糖，其中多糖可占细胞壁干重的80%～90%。真菌细胞壁也含有少量蛋白质（2%～13%）、脂质（2%～8%）及无机盐类。多糖以两种形式存在：一是组成细胞壁骨架的微细纤维，二是填入骨架缝隙的基质。骨架的微细纤维以几丁质（chitin）和葡聚糖为主，几丁质的基本成分是*N*-乙酰葡糖胺残基的直链多聚体，不同种类的真菌几丁质含量差别很大，其中以丝状真菌的含量最高，其作用与芽管的形成和菌丝生长有关。葡聚糖广泛存在于各类真菌的细胞壁内，但以酵母型真菌的含量最高，是真菌细胞外形坚硬的分子基础。基质由多种多糖组成，大多与蛋白质形成复合物，其中以甘露聚糖蛋白复合物含量最高，其作用可能与维持真菌的形态有关。脂质中以磷脂为主，不饱和脂肪酸也比较多，脂质具有保持真菌水分不被蒸发的作用。无机盐中以磷为主，并含有少许钙、镁等元素。

（2）结构：真菌细胞壁一般可分为四层结构，外层是不定形的葡聚糖层，厚度达87nm。第二层为糖蛋白形成的粗糙网，厚度约49nm。第三层是蛋白质层，厚度为9nm。最内层为几丁质微纤维层，厚度18nm。虽然不同真菌的细胞壁结构不完全相同，但均可用蜗牛酶消化脱壁，制成真菌原生质体。

3. 隔膜　隔膜位于菌丝或细胞间，是真菌进化过程中适应陆地环境的进化表现。不同真菌其隔

膜各异，低等真菌的隔膜是完整的，但随着真菌的进化，其隔膜出现不同大小的小孔，可调节两侧细胞质的流动，但担子菌纲真菌的隔膜还形成特殊的桶状结构。不同结构的隔膜也是真菌分类的依据之一。

4. 其他　与其他真核细胞相比，真菌的细胞核呈圆形，但比较小，仅1～5nm。一个细胞或菌丝节段可还有1～2个细胞核，甚至可多达20～30个。核仁与核膜在细胞分裂期仍然存在。真菌的核蛋白体也有别于细菌，沉降系数为80S，由60S和40S两个亚基组成。此外，真菌细胞内还有线粒体和内质网系统等多种细胞器。

三、真菌的培养特性与菌落特征

（一）真菌的繁殖方式

真菌的繁殖方式多样，可归为无性繁殖和有性繁殖两种。

1. 无性繁殖（asexual reproduction）　指不经过两个异性细胞融合而形成新个体的繁殖方式。是真菌的主要繁殖方式，其特点是简单、快速、产生新个体多，主要形式有以下4种：①芽生（budding）：从细胞壁发芽，母细胞进行核分裂，一部分核进入子细胞，后在母细胞和子细胞之间产生横膈，成熟后从母体分离。这是真菌较常见的繁殖方式，常见于酵母型和类酵母型真菌；②裂殖（binary fission）：细胞以二分裂方式产生子细胞，多发生在单细胞类型的真菌中，如裂殖酵母；③隔殖（septa）：在分生孢子梗的某一段落形成隔膜，随后原生质浓缩而形成一个新的孢子，该孢子可再独立繁殖；④菌丝断裂：菌丝可断裂成许多小片段，每一个片段在适宜的环境条件下又可发育成新的菌丝。

2. 有性繁殖（sexual reproduction）　指经过两个不同性别的细胞融合而产生新个体的繁殖过程。分为三个阶段，即两个细胞原生质结合的质配阶段、两个细胞核融合在一起的核配阶段及二倍体的核通过减数分裂成单倍体的减数分裂阶段。与医学有关的真菌大多数无有性繁殖方式。

（二）真菌的培养条件

真菌对营养要求不高，一般来说单糖、双糖、糊精和淀粉等都可作为真菌生长的碳源，而且多数真菌都能利用无机氮源或有机氮源。真菌生长过程中也需要无机盐类，个别真菌需要微量元素和生长因子。实验室常用沙保弱培养基（Sabouraud' s medium）培养。该培养基的成分简单，主要含有蛋白胨、葡萄糖、氯化钠和琼脂。真菌在各种不同培养基中虽都能生长，但菌落及菌体形态却有很大差别。为了统一标准，鉴定时以沙保弱培养基上生长的真菌形态为准。多数病原性真菌生长缓慢，培养1～4周才出现典型菌落，故在培养基内常加入抗生素，抑制细菌的生长。培养真菌的温度为22～28℃，但某些深部感染真菌的最适生长温度为37℃。最适酸碱度为pH4.0～6.0。

（三）真菌的菌落特征

在沙保弱培养基上，不同种的真菌可形成以下3种不同类型的菌落：

1. 酵母型菌落（yeast type colony）　是单细胞真菌的菌落形式。菌落柔软、致密、光滑、湿润。显微镜下观察可见单细胞性的芽生孢子，无菌丝。如隐球菌菌落（图33-9A）。

2. 类酵母型菌落　亦称酵母样菌落（yeast-like type colony），是单细胞真菌的菌落形式。菌落外观上和酵母型菌落相似，但显微镜下可见假菌丝。假菌丝是某些单细胞真菌出芽繁殖后，芽管延长不与母细胞脱离而形成的，由菌落向下生长，伸入培养基中。如白假丝酵母菌落（图33-9B）。

3. 丝状型菌落（filamentous type colony）　是多细胞真菌的菌落形式。由细胞菌丝体组成，由于菌丝一部分向空中生长，并形成孢子，从而使菌落呈絮状、绒毛状或粉末状，菌落正背两面呈不同的颜色。丝状菌落的形态和颜色常作为鉴定真菌的参考。见于大多数丝状真菌菌落（图33-9C）。

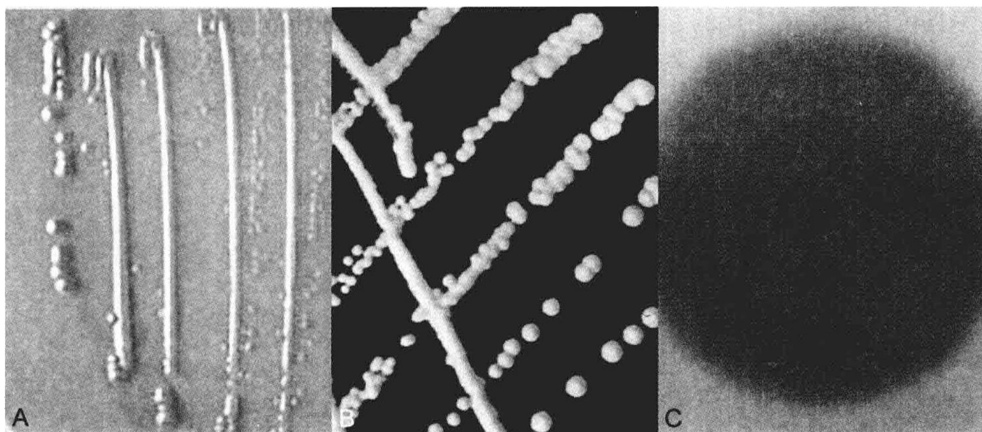


图33-9 三种类型真菌菌落
A. 隐球菌菌落；B. 白假丝酵母菌落；C. 丝状真菌菌落

四、真菌的变异性与抵抗力

真菌很容易发生变异。在人工培养基中多次传代或孵育过久，可出现形态、结构、菌落性状、色素以及各种生理性状（包括毒力）的改变。用不同成分的培养基和不同温度培养的真菌，其性状也有所不同。

真菌对热的抵抗力不强。孢子不同于细菌芽胞，一般60℃ 经1小时即被杀灭。对干燥、阳光、紫外线及多种化学药物的耐受性较强。对10～30g/L苯酚、25g/L碘酊、1g/L汞及10%甲醛液比较敏感。用甲醛液熏蒸被真菌污染的物品，可达到消除真菌的目的。

第二节 真菌的致病性与免疫性

一、真菌的致病性

真菌感染同细菌感染一样，需要一定的毒力和致病条件。在侵袭力方面，新生隐球菌的荚膜具有抗吞噬的作用；白假丝酵母具有黏附人体细胞的能力，当其芽管形成后，其黏附能力还有所加强；双相性真菌如组织胞浆菌、皮炎芽生菌等进入机体后便转换成酵母型真菌，因而在巨噬细胞中不仅不被杀灭，反而能帮助其扩散。在毒性物质方面，白假丝酵母、黄曲霉和烟曲霉的细胞壁糖蛋白有内毒素样活性，可引起休克和化脓性反应，而且黄曲霉和烟曲霉还能导致多器官的出血和坏死。白假丝酵母和烟曲霉的热休克蛋白90（HSP90）与宿主细胞和血清蛋白结合能使其功能改变。不同的真菌可通过以下不同方式致病。

1. 致病性真菌感染　致病性真菌感染是因为真菌侵入机体而致病，这类感染属于外源性感染。根据感染部位可分为深部和浅部致病性真菌感染，深部致病性真菌感染后症状多不明显，并有自愈倾向，如荚膜组织胞浆菌（*H. capsulatum*）、粗球孢子菌（*Coccidioides immitis*）所致的感染。深部感染的真菌也可在吞噬细胞内繁殖，抑制机体的免疫反应，引起组织慢性肉芽肿和形成组织坏死溃疡。深部感染真菌有时可引起全身性真菌感染，其致病机制目前尚不完全明了。浅部致病性真菌感染多具有较强的传染性，如各种皮肤癣菌。皮肤及角层癣菌的感染是由于这些真菌有嗜角质性，其中部分癣菌可产生酯酶（lipase）和角蛋白酶，可分解细胞的脂质和角蛋白，还可通过在皮肤局部大量繁殖后的机械刺激和代谢产物的作用，从而引起局部的炎症和病变。

2. 机会致病性真菌感染　机会致病性真菌感染多发生在机体免疫力降低时，常见于接受放疗或化疗的肿瘤患者、免疫抑制剂的长期使用者、艾滋病患者、免疫缺陷患者及糖尿病患者等。这些患者的免疫力本身已经低下，如果在此基础上继发机会性感染，其治疗效果往往都不理想，因而预后较差。其次就是发生在临床上使用各种导管的患者，因为导管为真菌的侵入提供了门户，并

可进一步扩散入血而导致全身性感染。机会致病性真菌多属于非致病的腐生性真菌和寄居在人体的正常菌群，在我国最常见的是白假丝酵母，其次是新生隐球菌，以及卡氏肺孢子菌（*Pneumocystis carinii*）、曲霉、毛霉等。

3. 真菌超敏反应性疾病　是指由于吸入或食入某些真菌的菌丝或孢子而引发的各类超敏反应，而真菌引起的超敏反应也是临床上超敏反应性疾病的重要组成之一。这些真菌表面具有较强的致敏原，可诱发很强的超敏反应。尽管有少数病例可是真菌感染与超敏反应同时发生，但大多数是由于真菌菌丝和孢子污染空气而被吸入人体，从而导致超敏反应的发生，所以呼吸道是其主要的侵入门户。引起超敏反应的真菌主要有曲霉、青霉（*Penicillium*）、镰刀菌（*Fusarium*）、链格孢霉（*Alternaria*）和着色真菌等，常引起哮喘、超敏性鼻炎、荨麻疹及接触性皮炎等疾病。

4. 真菌中毒　许多真菌可产生有毒的次级代谢产物，称为真菌毒素（mycotoxins），人食入后导致急性或慢性中毒和损伤，称为真菌中毒症（mycotoxicosis）。真菌毒素的产生条件大多是由于这些真菌污染了粮食、油料作物以及食品等。根据真菌毒素作用的靶器官，可将其主要分为肝脏毒、肾脏毒、神经毒、造血器官毒及超敏性皮炎毒等。如河北、河南的霉甘蔗中毒，主要由节菱孢霉（*Arthrinium*）等产生的3-硝基丙酸引起，脑是该真菌的主要靶器官，可引起抽搐、昏迷，死亡率达20%左右。但也有些真菌毒素可引起多器官或系统损伤，如长江流域等地因产毒的镰刀菌引起赤霉病麦，人食入后可引起肝、肾、心肌、脑等多器官的病变。另外，蘑菇可产生多种毒素，且烹调加工并不能使之破坏，人食入之后可引起严重的肝和肾功能损伤，重者可危及生命，这也需要医务工作者给予高度注意。

真菌中毒与一般的细菌性感染或病毒性感染不同，因为真菌是在污染的粮食或食品中产生毒素，故容易受到环境条件的影响，所以有明显的地区性和季节性，但不具传染性，一般也不引起流行。通过多次搓洗污染的粮食可起到一定的预防作用，因为搓洗可以减少毒素，从而减低其毒性。

5. 真菌毒素与肿瘤　随着对真菌代谢产物研究的深入，不断发现有些真菌毒素与肿瘤的发生有关，其中研究最多的是黄曲霉毒素（aflatoxin）。目前已发现黄曲霉毒素有20多种衍生物，其中黄曲霉毒素B_1的致癌作用最强，如果喂养大鼠的饲料中含0.015ppm黄曲霉毒素B_1，则喂养大鼠均可被诱发产生肝癌。此外，赭曲霉（*A. ochraceus*）产生的黄褐霉素也可诱发肝脏肿瘤；镰刀菌产生的T-2毒素可使试验大鼠产生胃癌、胰腺癌、垂体瘤和脑肿瘤；青霉菌产生的灰黄霉素可诱发试验小鼠的肝脏和甲状腺瘤；展青霉素可引起肉瘤等。真菌毒素与肿瘤的关系已经引起了医学界的广泛重视和深入研究。

二、真菌的免疫性

真菌在自然界分布广泛，但真菌病的发病率较低，说明人体对真菌有较高的非特异性免疫力。在感染过程中，可产生特异性细胞免疫和体液免疫。但一般说来，免疫力不强。

（一）固有免疫（又称非特异性免疫）

1. 皮肤黏膜屏障作用和正常菌群拮抗作用　健康的皮肤黏膜对皮肤癣菌具有一定屏障作用。如皮脂腺分泌的不饱和脂肪酸有杀真菌作用。儿童皮脂腺发育不够完善，故易患头癣，成人掌跖部缺乏皮脂腺，且手、足汗较多，易促进真菌生长，因而手足癣较多见。

白假丝酵母是机体正常菌群，存在于口腔、肠道、阴道等部位，正常情况下与其他肠道菌构成拮抗关系。但长期应用广谱抗生素导致菌群失调可引起继发性白假丝酵母感染。

2. 吞噬作用　真菌进入机体后易被单核巨噬细胞及中性粒细胞吞噬。但被吞噬的真菌孢子并不能完全被杀灭。有的可能在细胞内增殖，刺激组织增生，引起细胞浸润形成肉芽肿；有的还被吞噬细胞带到深部组织器官（如脑或内脏器官）中增殖，引起内部病变。此外，正常体液中的抗菌物质如IFN-γ、TNF等细胞因子在抗真菌感染方面也具有一定作用。

（二）适应性免疫（又称特异性免疫）

真菌侵入机体，刺激机体的免疫系统，产生特异性免疫应答。其中以细胞免疫为主，同时可诱发迟发型超敏反应。

1. 细胞免疫　真菌感染与细胞免疫有较密切的关系。很多研究已证实，Th_1反应占优势的细胞免疫应答在抗深部真菌（如白假丝酵母、新生隐球菌）感染中起重要作用。Th_1细胞产生IFN-γ、IL-2等激活巨噬细胞，上调呼吸爆发作用，增强其对真菌的杀伤力。CD_4^+ Th_1还可诱发迟发型超敏反应，控制真菌感染的扩散。患AIDS、恶性肿瘤或应用免疫抑制剂的人因其T细胞功能的抑制，易并发播散性真菌感染，并导致死亡。但细胞免疫对真菌感染者的康复起何作用尚不清楚。真菌感染一般不能形成稳固的病后免疫。

某些真菌感染后可发生迟发型皮肤超敏反应，如临床常见的癣菌疹。对真菌感染者进行皮肤试验，可用于诊断或流行病学调查。

2. 体液免疫　真菌是完全抗原，深部真菌感染可刺激机体产生相应抗体。抗体的抗真菌作用尚有争论。如白假丝酵母阴道炎患者的血液及阴道分泌物中，可证明有特异性的IgG及IgA抗体，但不能抑制阴道中的白假丝酵母感染。但也有一些研究证明保护性抗体在抗深部真菌感染中的作用。如抗白假丝酵母黏附素抗体，能阻止白假丝酵母黏附于宿主细胞。抗新生隐球菌荚膜特异性IgG抗体有调理吞噬作用。检测抗体对深部真菌感染的诊断有参考价值。浅部真菌感染诱生抗体的水平很低，并且易出现交叉反应，无应用价值。

第三节　真菌感染的检查方法

一、标本的采集

浅部感染可取病变部位的鳞屑、毛发或甲屑。深部感染真菌则取病变部位的分泌物、排泄物、体液、痰液及血液等。

标本采取应注意：①标本量应充足，如血液、脑脊液不少于5ml，胸水不少于20ml；②标本应新鲜，取材后立即送检，最长不得超过2小时；③严格无菌操作，避免污染。

二、病原性真菌的检查和鉴定

1. 显微镜直接镜检　包括不染色标本和染色标本的显微镜检查。黏稠或含角质的甲屑类标本，先用10% KOH微加热处理，使标本软化和透明，然后加盖玻片不染色直接镜检。如见到孢子或菌丝可初步诊断为真菌病。深部真菌感染，如疑似白假丝酵母等感染，可取分泌物或体液标本离心沉淀物作涂片和革兰染色后镜检，若发现卵圆形、大小不均、着色不匀，还有芽生孢子，甚至有假菌丝的革兰阳性菌体即可初步诊断。怀疑隐球菌感染时取CSF做墨汁负染色观察，见有肥厚荚膜的酵母型菌体即可确诊。

2. 分离培养　常用于显微镜直接检查不能确定是否真菌感染，或需要确定感染真菌的种类时。皮肤、毛发标本须先经70% 乙醇或2% 苯酚浸泡2～3分钟以杀死杂菌，再接种于含抗生素和放线菌酮（抑制细菌、放线菌的生长）的沙保弱培养基。如标本为血液，则需先进行增菌后再分离；如标本为脑脊液，则应离心取沉淀物进行分离培养。培养温度以25℃（丝状真菌）或37℃（酵母型真菌）为宜。根据实际需要，有时还可选用其他特殊培养基（如科玛嘉显色培养基）。对于丝状真菌可小培养后，乳酸酚棉兰染色观察镜下菌丝、孢子的形态特征，结合菌落特征进行鉴定。必要时可加做动物试验。

3. 血清学检查　血清学检查可作为诊断真菌性疾病的辅助方法，检测真菌抗原或机体感染后所产生的抗体。近年来对深部真菌病的血清学检查有一定进展。应用对流免疫电泳法（CIE）检测内脏真菌病的沉淀素，ELISA法检测血清中或CSF中的特异性抗体或抗原，荧光抗体染色法对标本中

抗原进行鉴定和定位。

4. 核酸检测　真菌学诊断除依据真菌形态结构等表型特征外，还可应用分子生物学技术检测核酸，从核酸（G+C）mol%测定，PCR限制性片段长度多态性（PCR-RFLP）分析、随机扩增多态性DNA（RAPD），DNA特殊片段测序，针对真菌的共同序列而设计的“全能引物（pan-primer）”扩增580bp的产物，为真菌所共有，检测血液标本即可明确体内有无真菌感染。核酸检测可以快速鉴定真菌，这些新技术的应用提高了真菌病的诊断水平，有利于真菌病的防治。

5. 显色鉴别培养　本方法是近年真菌学诊断上所采用的一种新方法，其原理是利用真菌不同的生化反应，分解底物而使其生长菌落显示不同的颜色。本法可用于分离和鉴定主要致病性真菌，而且不影响药敏及其他试验结果，目前在临床上主要用于假丝酵母的检测。本方法具有快速和准确两大优点，将培养物置30～35℃培养箱中培养24～48小时即可得到结果，并且将假丝酵母鉴定到种，准确率达到95%。

三、真菌毒素的检测

目前发现的真菌毒素有200多种，其中部分毒素可引起人类中毒以及多种肿瘤的发生，严重危害人类健康，所以对真菌毒素的快速检测，尤其是对食品中真菌毒素的检测是保障人类健康的一个重要方面。对黄曲霉毒素的检测常用薄层层析法、高效液相色谱等方法，虽然这些方法灵敏快速，但需贵重的仪器和复杂的提取方法，因而难以被推广应用；而间接竞争ELISA法和RIA具有操作简便、快速敏感等优点，易于在各级医院推广应用。

第四节　真菌感染的防治

皮肤癣菌感染的预防，目前尚无有效的方法，主要是注意清洁卫生，避免直接或间接与患者接触。预防足癣应经常保持鞋袜干燥，透气性好，以消除皮肤癣菌增殖的条件。浅部真菌感染的治疗，局部可用市售的癣药水或药膏，如硝酸咪康唑、复方硫酸铜溶液及克霉唑等，但较难根治，易复发。

对深部真菌病目前尚无特异性预防方法，故强调一般性预防，主要应除去各种诱因，提高机体免疫力。尤其是细胞免疫功能低下的人，或应用免疫抑制剂的患者，应注意防止并发真菌感染。治疗药物有两性霉素B、制霉菌素、5-氟胞嘧啶、克霉唑、益康唑及酮康唑等。但这些药物毒副作用都较大，治疗有效剂量与中毒剂量接近，实用性差。抗真菌新药酮康唑（里素劳）、伊曲康唑（斯皮仁诺）具有抗菌谱广，尤其对曲霉疗效好、毒副作用低的特点。预防真菌性食物中毒，应严禁销售和食用发霉的食品，加强市场管理及卫生宣传。

展　望

真菌种类繁多，与人类关系密切，“只要是真菌就有可能与人类有关”的这一观点已逐步被实践证实。近年来，由于抗生素、抗肿瘤药物、免疫抑制剂等的滥用，器官移植、侵入性诊疗技术的开展，艾滋病、糖尿病、恶性肿瘤患者的增加等，导致免疫力低下人群增多，易发生真菌感染，特别是机会致病菌引起的感染呈明显上升趋势，遍布临床各个科室，疾病进展迅速，死亡率高，成为院内感染死亡的主要原因之一，已引起医学界的高度重视。随着生命科学技术的进一步发展，对医学真菌的研究也将会不断地深入，以满足临床对真菌病诊断、治疗及预防的需要。

1996年科学家们完成了第一个真核生物酿酒酵母（*Saccharomyces cerevisia*）的基因组测序，在全球范围内激起了真核基因功能和表达的研究热潮。为加快真菌基因组研究的步伐，2000年由美国Broad研究所与真菌学研究团体发起真菌基因组行动（fungal genome initiative，FGI），陆续制定了50余种真菌的基因组计划。至2009年9月，有100余种真菌基因组序列已组装完成或正在组装

（http：//www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/leuks.cgi）。多种重要致病性真菌的基因组序列测序工作已完成，如白色念珠菌、光滑念珠菌、新生隐球菌、烟曲霉、构巢曲霉、红色毛癣菌、马尔尼菲青霉等，极大地促进了真菌的分类、系统发育、功能基因等研究。自1997年以来，真菌蛋白质组学研究也不断深入。白假丝酵母、新生隐球菌、烟曲霉、构巢曲霉等病原真菌的蛋白质数据库不断完善，为真菌蛋白质功能的研究提供了重要的依据。随着生物信息学的发展，利用这些基因和蛋白质信息，鉴定真菌生长、代谢、致病及耐药相关基因，为阐明其致病机制、耐药机制、寻找有效的药物靶标奠定良好的基础，也将为抗真菌药物和真菌疫苗的研究带来革命性的突破。

在真菌的致病机制研究方面尚需进行深入研究。到目前为止，人们并没有发现有真菌产生的内毒素或外毒素，因而其详细的致病机制仍不很清楚。要阐明真菌的致病机制，首先应该进一步深入研究真菌的超微结构。真菌是医学八大类微生物中唯一属于真核细胞型的微生物，其结构复杂，这当中尤其值得研究的是真菌细胞壁及其壁外结构。一方面它们位于真菌最外层，与真菌的黏附和致病有着密切的关系，如新生隐球菌的荚膜。其次是真菌细胞壁组成复杂，有以几丁质或葡聚糖为主的细胞壁微细纤维和以蛋白质多糖复合物为主的骨架间基质。这些物质既具有重要的生理意义，也可能在真菌的分类学和致病性上都具有重要作用。随着真菌超微结构研究的不断深入，将为真菌病的治疗和预防带来新的突破。

在真菌病的诊断方面，目前已不再局限于传统的用显微镜来观察真菌菌丝和孢子的形态学诊断方法，而是逐步向分子水平深入。目前通过对真菌组成成分的血清学分析，可将白假丝酵母分为A和B血清型，将新生隐球菌分为A、B、C、D和AD等5个血清型。此外，通过对真菌DNA种（G+C）mol%测定，可进一步了解真菌的系统发育和进化关系，并有助于对真菌的分类和鉴定。其他新方法还包括对真菌DNA-DNA或DNA-rRNA同源性分析、随机扩增多态性DNA（RAPD）、限制性酶切片段长度多态性分析（RFLP）、扩增片段长度多态性（AFLP）等，这些新技术的应用，既提高了真菌病的分子诊断水平，也对真菌的分类及系统发育研究起了积极的推动作用，如过去曾一直被认为是原虫的肺孢子虫现已明确归入真菌，成为肺孢子菌。

在真菌病的治疗方面已经有了很大进展，主要体现在以下两个方面。一是新的抗真菌药物不断出现，而且毒副作用明显降低，治疗效果不断提高。可以肯定地说，疗效好而毒副作用小的新型抗真菌药物将会不断被发掘出来。二是抗真菌的药敏检测方法学上有所突破，如将流式细胞术（FCM）应用于真菌的药敏检测，可从亚细胞水平和分子水平以多种参数反映该菌对药物的敏感情况。近年来，人们还利用计算机图像处理技术和自动分析系统来研究单个真菌菌丝的生长动态过程，即automatic antifungal activity analyzing system，可以清楚地反映药物对真菌生长的抑制情况，计算出该药物对该菌的最小抑菌浓度（MIC），对临床真菌病的治疗具有重要意义。

（王　丽）

第三十四章　主要的病原性真菌

在自然界存在的众多真菌中，目前发现对人有致病性和机会致病性的真菌只有几百种。而90%的人类真菌病仅由其中几十种真菌引起。同一部位的病变可以由不同种类的真菌引起，而且，同一种真菌也可以引起不同部位的病变。近年来，真菌感染日益增多，与长期使用广谱抗生素后所致的菌群失调，免疫抑制剂、抗肿瘤药物的广泛应用，各种介入性诊疗技术的开展，及AIDS、糖尿病等患者增加所致的免疫功能低下有关。按病原性真菌侵犯的部位和临床表现，可将其分为皮肤感染、皮下组织感染、深部感染和机会致病性感染。本章将主要介绍几类比较常见的病原性真菌，以及真菌毒素与部分肿瘤的关系。

The discovery shows that among the numerous fungi which existed in nature，only hundreds of them have been found the pathogenicity or opportunistic pathogenicity to human and only a few dozens of them have been implicated in 90% human mycosis. The lesions in same Organ can be caused by different types of fungi，and the same fungus can also cause lesions in different Organs as well.

In recent years，fungal infections is increasing rapidly. The reasons of it are as follows： dysbacteriosis caused by long-term usage of broad-spectrum antibiotic，widely usage of immunosuppressive agents，development of various interventional techniques in treatment and the increasing immunocompromised patients caused by AIDS，diabetes and other basis diseases.

Mycosis may be classified as superficial，subcutaneous，deep-seated and opportunistic according to the violation sites and clinical manifestations. This chapter focuses on the common types of pathogenic fungi and the relationships between the fungal toxins and some tumors.

第一节　皮肤感染真菌

寄生或腐生于角蛋白组织（表皮角质层、毛发、甲板）的真菌统称浅部真菌。浅部真菌一般不侵入皮下组织或内脏，故不引起全身感染。浅部真菌可分为皮肤癣菌和角层癣菌两类。人类感染多因接触患者、患畜或染菌物体而被感染。

一、皮肤癣菌

皮肤癣菌（dermatophytes）是寄生于皮肤角蛋白组织的浅部真菌，可引起皮肤癣（tinea），以手足癣最多见。皮肤癣菌大约由40多个种组成，分属于3个属，即表皮癣菌属（*Epidermophyton*）、毛癣菌属（*Trichophyton*）及小孢子菌属（*Microsporum*）。根据菌落的形态、颜色和所产生的大、小分生孢子，可对其作初步鉴定（图34-1）。

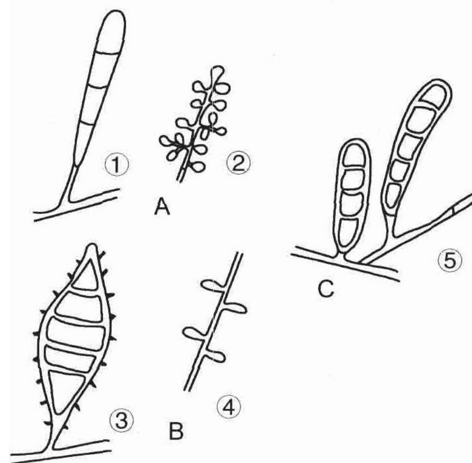


图34-1　皮肤癣菌的孢子形态
A. 毛癣菌①大分生孢子②小分生孢子；B. 小孢子菌③大分生孢子④小分生孢子；C. 表皮癣菌⑤大分生孢子

（一）生物学特性

1. 表皮癣菌属　本属只有1个种对人类有致病作用，即絮状表皮癣菌（*E. floccosum*），可侵犯人表皮、甲板，但不侵犯毛发。临床上可致体癣、足癣、手癣、股癣和甲癣等，多发生于热带地区。

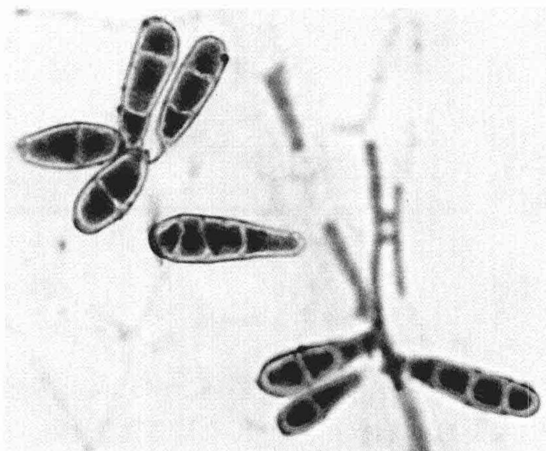


图34-2　表皮癣菌的形态（×400）

本菌在沙保弱培养基上室温或28℃生长较快，菌落开始如蜡状，继而出现粉末状，由白色变成黄绿色。镜检可见菌丝侧壁及顶端形成大分生孢子，呈棍棒状，壁薄，由3～5个细胞组成（图34-2）。无小分生孢子。菌丝较细、有隔，偶见球拍状、结节状或螺旋状菌丝。

2. 毛癣菌属　本属有20余种，其中13种对人有致病性，可侵犯皮肤、毛发和指（趾）甲。主要有石膏样毛癣菌（*T. gypseum*，异名：须毛癣菌*T. mentagrophytes*）、红色毛癣菌（*T. rubrum*）和紫色毛癣菌（*T. violaceum*）。其中，前两种和表皮癣菌属的絮状表皮癣菌在我国是侵犯表皮和甲板的3种常见皮肤癣菌。

沙保弱培养基上不同的菌种菌落性状及色泽也各异，可呈颗粒状、粉末状、绒毛状等。颜色为白色、奶油色、黄色、红色、橙色、紫色等。镜下可见细长、薄壁、棒状、两端钝圆的大分生孢子以及侧生、散在或呈葡萄状的小分生孢子（图34-3）。

3. 小孢子菌属　本属有15个种，多半对人致病，如铁锈色小孢子菌（*M. ferrugineum*）、犬小孢子菌（*M. canis*）、石膏样小孢子菌（*M. gypseum*）、奥杜盎小孢子菌（*M. audouinii*）等，主要侵犯皮肤和毛发。患处标本直接镜检可见孢子及菌丝。培养菌落呈粉末状或绒毛状，灰色、棕黄色或橘红色，表面粗糙。镜检可见梭形、壁厚的大分生孢子，菌丝侧枝末端有卵圆形的小分生孢子（图34-4）。菌丝有隔，呈梳状、结节状或球拍状。

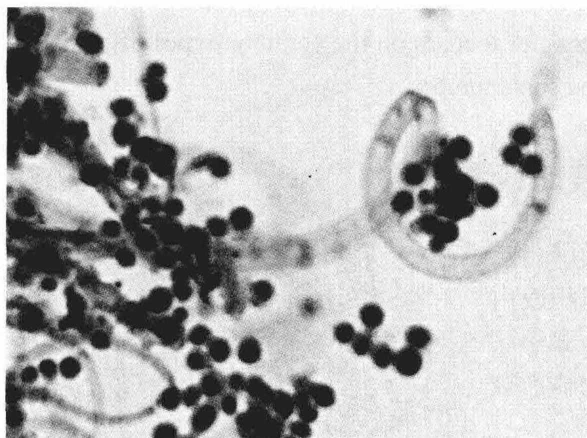


图34-3　毛癣菌的形态（×400）

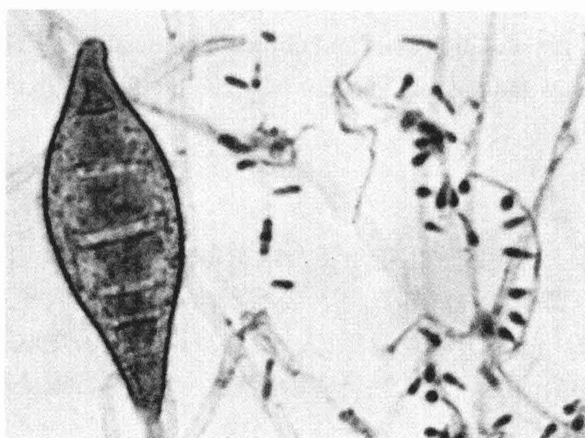


图34-4　小孢子菌的形态（×400）

（二）致病性

皮肤癣菌在局部皮肤的增殖及其代谢产物可刺激机体产生病理反应，从而引起感染部位的病变，其主要的侵犯部位和传染来源见表34-1。

表34-1　皮肤癣菌的种类、侵犯部位及传染来源

菌属	菌种数	感染部位			传染来源	
		皮肤	毛发	甲板	人	动物
表皮癣菌属	1	+	–	+	絮状表皮癣菌	无
小孢子菌属	15	+	+	–	奥杜安小孢子菌	犬小孢子菌 石膏样小孢子菌
毛癣菌属	20	+	+	+	石膏样毛癣菌 红色毛癣菌	石膏样毛癣菌

（三）微生物学检查法

一般取病变皮肤、指（趾）甲或毛发，加10% KOH微加热消化后直接镜检，如发现菌丝和孢子即可初步诊断为皮肤癣菌感染。如需进行菌种鉴定，可将标本接种到沙保弱培养基上，经小琼脂块培养，根据菌落特征、菌丝和孢子形态特点等进行鉴定。

（四）防治原则

注意清洁卫生，避免与患者接触；足癣应保持鞋袜干燥。治疗时，头癣可用灰黄霉素、伊曲康唑等；体癣和股癣宜用伊曲康唑，甲癣可用灰黄霉素和伊曲康唑。

二、角层癣菌

角层癣菌是腐生于皮肤角层很浅表及毛干表面的浅部真菌，引起角层型和毛发型病变。引起这种感染的致病性真菌主要包括糠秕孢马拉色菌（*Malassezia furfur*）、何德毛结节菌（*Piedraia hortae*）和白吉利毛孢子菌（*Trichosporon beigelii*）。

糠秕孢马拉色菌可引起皮肤表面出现黄褐色薄糠状鳞屑样的花斑癣，好发于颈、胸、腹、背和上臂等汗腺丰富部位，形如汗渍斑点，俗称汗斑，只有碍美观，不影响健康。患处标本直接镜检可见短粗、分枝状有隔菌丝以及成丛状的酵母样细胞。由于该菌具有嗜脂性特点，培养时需加入橄榄油等。通常为酵母型菌落。培养温度为37℃，培养后形成的菌落扁平，稍高于培养基表面，表面有细小的突起，但不向培养基内生长。镜下可见球形或卵圆形的酵母形细胞，亦可见短粗、分枝状有隔菌丝。何德毛结节菌可引起硬的黑色结节，使毛干上结节如砂粒状。

汗斑（花斑癣）多发于夏秋季，主要是由于汗液浸渍，汗湿的衣物未及时更换、清洗等原因造成霉菌孳生，当个体皮肤抵抗力降低时而致病。也可由于穿用汗斑患者的衣物而被传染患病，亦可因职业导致汗液浸渍而发病，如重体力劳动者、电焊操作者、运动员等均为易感人群。汗斑重在预防，如因工作或运动，出汗后应及时沐浴、更换衣物，不随便穿用他人衣物，患病后应及早诊治。汗斑对外用药物敏感，如20%～30%硫代硫酸钠液、1%克霉唑霜、益康唑乳液或1%咪康唑乳液等，疗效很好。只要坚持治疗与加强个人卫生，不难治愈，一般无需内服抗真菌药。

第二节　皮下组织感染真菌

皮下组织感染真菌主要有着色真菌与孢子丝菌，经外伤侵入皮下，一般感染只限于局部，但也可扩散至周围组织。孢子丝菌经淋巴管扩散；着色真菌经血液或淋巴管扩散。

一、申克孢子丝菌

孢子丝菌为腐生性真菌，其中主要的病原菌是申克孢子丝菌（*Sporothrix schenckii*）。申克孢子丝菌为双相型真菌。用患者标本（脓、痰、血、病变组织）制片，油镜下观察可见梭形或圆形孢子。在沙保弱培养基上25～28 ℃培养3～5天，可长出灰褐色皱膜状菌落，镜下可见有隔菌丝及成群的

梨形小分生孢子（图34-5）。在含胱氨酸的血平板培养基上37℃培养，则以芽生方式形成酵母型菌落。

人类通过有创伤的皮肤接触染菌土壤或植物引起感染，局部皮肤形成亚急性或慢性肉芽肿，使淋巴管出现链状硬结，称为孢子丝菌性下疳（sporotrichotic chancre）。亦可经口或呼吸道侵入，沿血行扩散至其他器官。我国大部分地区皆已发现，以东北地区为多见。

以申克孢子丝菌制备的抗原与患者血清作凝集试验，效价≥1 ∶ 320有诊断意义。亦可用孢子丝菌素（sporotrichin）作皮肤试验，若24～48小时在局部出现结节，可辅助临床诊断。

孢子丝菌病在某些患者可以是自限性疾病。治疗可口服饱和碘化钾奶液或伊曲康唑。若引起深部感染，可用两性霉素B治疗。

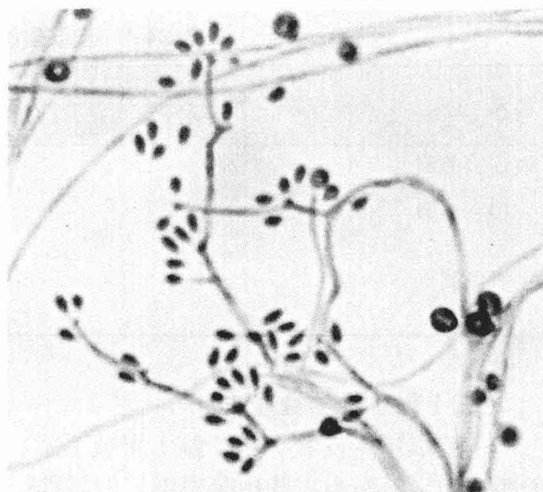


图34-5 申克孢子丝菌小分生孢子形态（×400）

二、着色真菌

着色真菌是分类上相近，引起临床症状也相似的一些真菌的总称，多为腐生菌，广泛存在于土壤及植物中。代表菌有卡氏枝孢霉（*Cladosporium carrionii*）、裴氏丰萨卡菌（*Fonsecaea pedrosoi*）、疣状瓶霉（*Phialophora verrucosa*）、甄氏外瓶霉（*Exophiala jeanselmei*）、链格孢霉（*Alternaria alternata*）、紧密丰萨卡菌（*Fonsecaea compacta*）、鼻毛癣菌（*Rhinocladiella aquaspersa*）等（表34-2）。一般由外伤侵入人体，感染多发于颜面、下肢、臀部等暴露部位，病损皮肤呈境界鲜明的暗红色或黑色区，故称着色真菌病（*chromomycosis*）。亦侵犯深部组织，呈慢性感染过程。在机体全身免疫力低下时可侵犯中枢神经系统，发生脑内感染。

表34-2 主要着色真菌及其孢子形态

病原菌名称	孢子形态
卡氏枝孢霉	较长的分生孢子梗末端分叉长出分生孢子
裴氏丰萨卡菌	大部分分生孢子呈短链状，末端孢子发芽形成新的分生孢子，亦可直接形成于分生孢子梗两侧
疣状瓶霉	花瓶状的瓶囊上成簇生长圆形的小分生孢子
甄氏外瓶霉	菌丝末端尖细部或菌丝侧壁突起部可见成簇的椭圆形或橄榄形分生孢子
链格孢霉	菌丝顶生或偶见分枝侧生分生孢子，暗色，有纵横隔膜，倒棍棒状、椭圆形或卵形，常成链排列

本菌在组织中为厚壁、圆形细胞。培养基上生长缓慢，菌落呈暗棕色。镜检可见棕色有隔菌丝，在分枝、侧面或顶端形成分生孢子梗，梗上产生棕色圆形椭圆形的分生孢子。分生孢子有树枝形、剑顶形、花瓶形、砖形等不同形状，是鉴定本菌的重要依据（图34-6）。由于其多态性，给正确的形态学鉴定带来很大的困难。近年来，二次代谢产物、分子生物学方法已被用于此类真菌的鉴定、诊断。

着色真菌病不具有传染性，对较小的病变皮肤可经外科手术切除，大面积皮肤损伤者可服用5-氟尿嘧啶或伊曲康唑进行治疗。

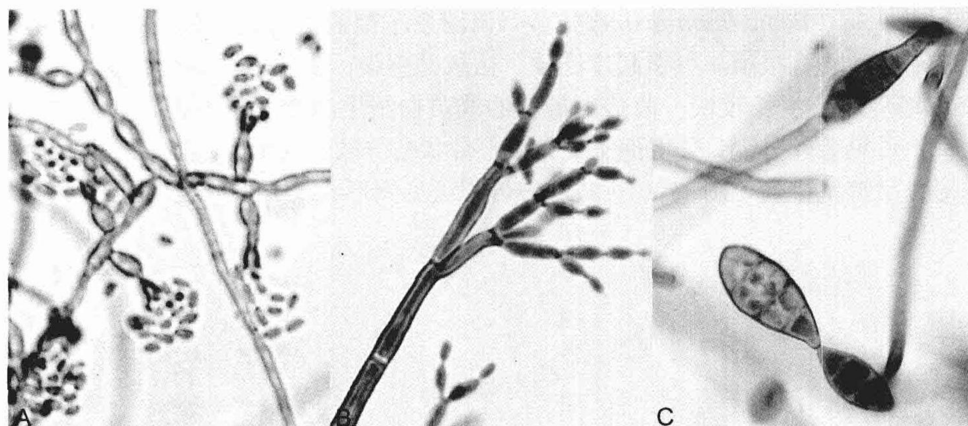


图34-6　着色真菌的分生孢子形态（×400）
A. 疣状瓶霉；B. 卡氏枝孢霉；C. 链格孢霉

第三节　地方流行性真菌

地方流行性真菌具有地方流行的特点，其所引起的感染症状多不明显，有自愈倾向；该感染虽有组织或器官的特异性，但亦可扩散至全身任何器官，严重者甚至可引起死亡。这类真菌均属双相型真菌，对环境温度敏感，对常用的酮康唑和两性霉素B菌敏感。一般在体内或37℃培养时呈酵母型，在25℃人工培养变为丝状型（表34-3）。

表34-3　主要地方流行性真菌及其重要生物学特性

病原菌名称	体内形态	培养形态	培养情况	自然分布
荚膜组织胞浆菌	圆形或卵圆形，有荚膜的孢子	大分生孢子，壁厚，四周有排列如齿轮的棘突	生长缓慢，形成白色棉絮状菌落，然后变黄转至褐色	土壤
粗球孢子菌	较大的厚壁孢子，内含许多内生性孢子	关节孢子	生长迅速，很快由白色菌落转变为黄色棉絮状菌落	碱性土壤，鸟粪
皮炎芽生菌	圆形的单芽生孢子	小分生孢子为主，偶可形成厚膜孢子	初为酵母样薄膜，后为乳白色菌丝覆盖	不清楚
巴西副球孢子菌	圆形的单或多芽生孢子	小分生孢子和厚膜孢子	菌落初呈膜状，有皱褶，其后形成绒毛状的白色或棕色的气生菌丝	不清楚
马尔尼菲青霉	圆形或椭圆形关节孢子	链状小分生孢子	菌丝相时，菌落表面绒毛状，由淡黄白变为棕红色。	老鼠

1. 荚膜组织胞浆菌（*Histoplasma capsulatum*）　标本直接镜检可见单核细胞或中性粒细胞中有圆形或卵圆形的酵母型细胞。以出芽繁殖，四周有不着色的荚膜样物质。室温下生长缓慢，形成白色棉絮样菌落，逐渐从黄色转为褐色。镜检可见细长有隔菌丝，侧面或孢子柄上长有特殊的圆形大分生孢子，厚壁，四周有棘突，排列如齿轮，有诊断价值（图34-7）。

2. 粗球孢子菌（*Coccidioides immitis*）　生长迅速，开始为白色菌落，后变为棕黄色棉絮样菌落。镜检可见有较大的厚壁球孢子，内含许多内生性孢子，厚壁破裂后逸出。

3. 皮炎芽生菌（*Blastomyces dermatitides*）和巴西副球孢子菌（*Paracoccidioides brasiliensis*）　两者在镜下可见细胞呈酵母型，均以芽生方式繁殖。两者的区别是皮炎芽生菌每个细胞仅出1个芽，而巴西副球孢子菌细胞上可有多个芽。

4. 马尔尼菲青霉（*Penicillium marneffei*） 该菌系东南亚部分地区最常见的机会致病菌之一，我国广西、广东等地均有报道。可引起广泛性、播散性感染，多见于艾滋病患者。

该菌25℃培养时，生长较快。菌落由最初的淡黄白绒毛状变为棕红色，有皱褶，可产生玫瑰红色色素。镜下可见菌丝分隔，分生孢子梗光滑，帚状枝分散，双轮生，稍不对称，瓶梗顶端变窄，分生孢子球形，呈链状排列（图34-8）。37℃酵母相可见圆形或长方形的关节孢子。

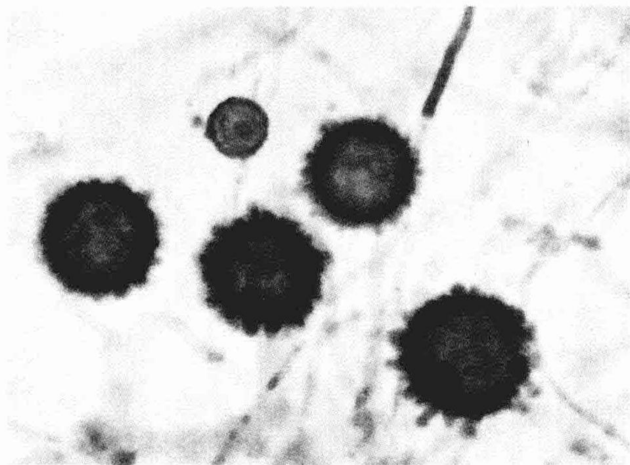


图34-7 荚膜组织胞浆菌大分生孢子（×400）

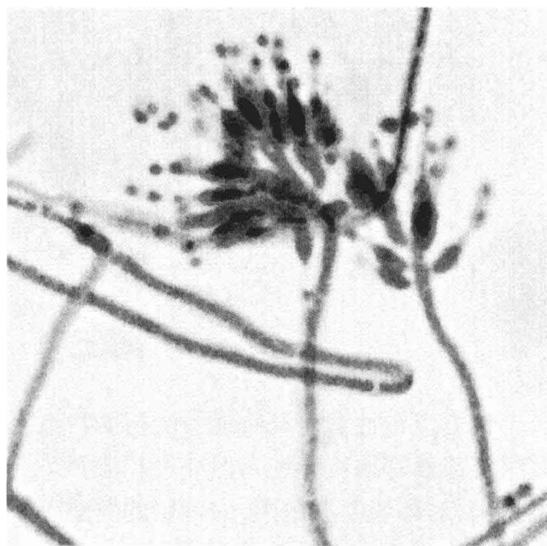


图34-8 马尔尼菲青霉帚状枝（×400）

第四节 机会致病性真菌

机会致病性真菌主要包括假丝酵母属（*Saccharomyces*）、隐球菌属（*Cryptococcus*）、肺孢子菌属（*Pneumocystis*）、曲霉属（*Aspergillus*）和毛霉属（*Mucor*）等。部分机会致病菌是机体正常菌群的成员，如白假丝酵母菌及其相关的酵母菌。机体免疫力低下为常见的致病条件，属内源性感染；而其他机会致病菌则多属外源性感染，因为它们广泛分布于土壤、水和空气中。近年来临床上真菌病的增多主要是由于机会致病菌发病上升所致。机会致病菌感染常引起的疾病包括心内膜炎、肺炎、尿布疹、鹅口疮、阴道炎、脑膜炎及败血症等，若不及时治疗可危及生命。

一、白假丝酵母

假丝酵母属中有81个种，其中10个种有致病性。白假丝酵母（*C. albicans*）是本属最常见的致病菌，可引起皮肤、黏膜和内脏的急性或慢性炎症，即白假丝酵母病（candidiasis）。

（一）生物学性状

菌体呈圆形或卵圆形，直径3～6μm，革兰染色阳性，以芽生方式繁殖（图34-9）。在组织内易形成芽生孢子及假菌丝（图34-10）。培养后的白假丝酵母在假菌丝中间或顶端常有较大、壁薄的圆形或梨形细胞，可以发展成为厚膜孢子，为本菌特征之一。

在普通琼脂、血琼脂及沙保弱琼脂培养基上均生长良好。37℃ 培养2～3天后，出现灰白或奶油色、表面光滑、带有浓厚酵母气味的典型的类酵母型菌落。培养稍久，菌落增大，颜色变深，质地变硬或有皱褶。血琼脂37℃ 培养10天，可形成中等大小暗灰色菌落。在1%吐温－80玉米粉琼脂培养基上可形成丰富的假菌丝和厚膜孢子。

（二）致病性

白假丝酵母是机会致病菌，通常存在于人的皮肤及口腔、上呼吸道、阴道与肠道黏膜，当机体出现菌群失调或抵抗力下降时（如AIDS），可引起各种白假丝酵母病。

1. 皮肤、黏膜感染　皮肤白假丝酵母感染好发于皮肤潮湿、皱褶部位，可引起湿疹样皮肤白假丝酵母病、肛门周围瘙痒症及肛门周围湿疹和指间糜烂症等，易与湿疹混淆。黏膜感染则可见有鹅口疮（thrush）、口角糜烂、外阴与阴道炎等。其中以鹅口疮最常见。

2. 内脏感染　有肺炎、支气管炎、肠炎、膀胱炎和肾盂肾炎等，也可引起败血症，已成为临床上常见的败血症病原菌之一。

3. 中枢神经系统感染　可有脑膜炎、脑膜脑炎、脑脓肿等。中枢神经系统白假丝酵母病多由原发病灶转移而来。

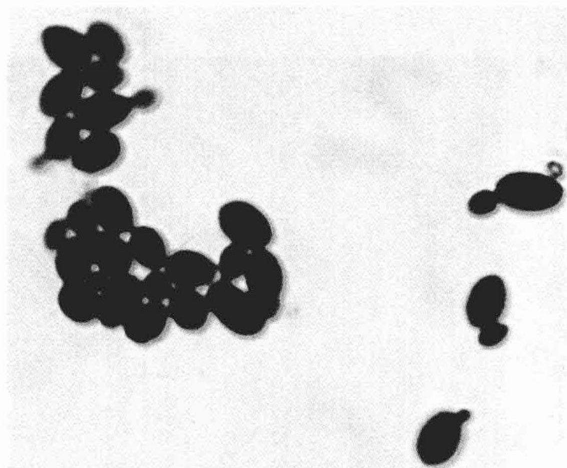


图34-9　白假丝酵母芽生孢子（×1000）

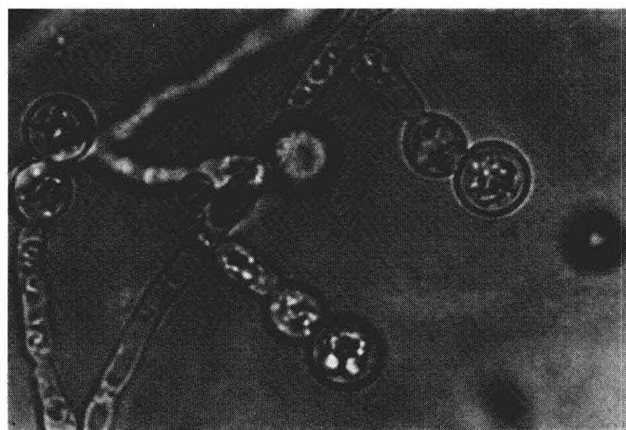


图34-10　白假丝酵母的假菌丝（×1000）
显示白假丝酵母假菌丝和厚膜孢子

（三）微生物学检查法

1. 直接镜检　脓、痰标本可直接涂片，革兰染色后镜检。患部如为皮肤或指（趾）甲，取皮屑或甲屑用10% KOH消化后镜检。可见圆形或卵形的菌体及芽生孢子，同时尚可观察到假菌丝。如见出芽的酵母菌与假菌丝，才可确认白假丝酵母感染，如有大量假菌丝，表明处于活跃增殖期，有助于指导临床治疗。

2. 分离培养　可将标本接种于沙保弱培养基中分离培养，25℃经1 ~ 4天，在培养基表面形成乳白色（偶见淡黄色）酵母样菌落。镜检可见假菌丝及成群的卵圆形芽生孢子。

3. 鉴定　假丝酵母种类繁多，可根据形态结构、培养特性、生化反应等进行鉴别（表34-4）。

表34-4　4种病原性假丝酵母的鉴别要点

菌种名称	芽管形成试验	厚膜孢子形成试验	沙保弱肉汤培养基菌膜形成试验	糖发酵试验			
				葡萄糖	麦芽糖	蔗糖	乳糖
白假丝酵母（*C. albicans*）	+	+	–	+	+	+	–
热带假丝酵母（*C. tropicalis*）	–	±	+	+	+	+	–
近平滑假丝酵母（*C. parapsilosis*）	–	–	–	+	+	+	–
克柔假丝酵母（*C. krusei*）	–	–	+	+	-	-	–

（1）芽管形成试验：将该菌接种于0.5 ~ 1.0ml正常人血清或羊血清中，37℃，1.5 ~ 4天，镜检可见芽生孢子及芽管形成。

（2）厚膜孢子形成试验：在1%吐温-80玉米粉培养基中，25℃，24～48天后，在菌丝顶端、侧缘或中间可见厚膜孢子。

（3）动物试验：对于白假丝酵母感染的诊断，微生物学检查必须结合临床才能确定。防止把腐生性假丝酵母误认为病原菌。

（四）防治原则

目前对白假丝酵母病的高危人群尚未建立起有效的预防措施。治疗白假丝酵母感染常用氟康唑，效果较好。

二、新生隐球菌

新生隐球菌（*Cryptococcus neoformans*）属于隐球菌属（*Cryptococcus*）。该属种类较多，包括17个种和8个变种，在自然界分布广泛，鸽粪中大量存在，也存在于人的体表、口腔和粪便中。

（一）生物学性状

菌体为圆形的酵母样细胞，直径为4～12μm。菌体外周有一层肥厚的胶质样荚膜，比菌体可大1～3倍。用墨汁负染色后镜检，可在黑色的背景中见到圆形或卵圆形的透亮菌体（图34-11）。本菌以芽生方式繁殖，常呈单芽，有时出现多芽，芽颈较细，但不生假菌丝。

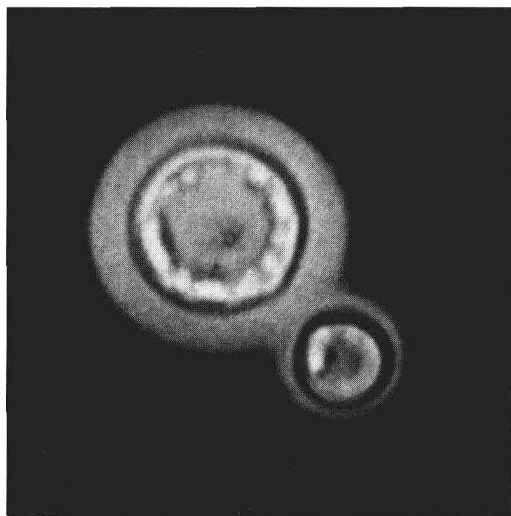


图34-11 新生隐球菌酵母细胞（×1000）
显示芽生繁殖和肥厚的荚膜

在沙保弱或血琼脂培养基上，25℃和37℃下均生长良好。数天后形成酵母型菌落，初为乳白色细小菌落，增大后表面黏稠、光滑，转变为橘黄色，最后变成棕褐色。在麦芽汁液体培养基中，25℃孵育3天后呈混浊生长，可有少量沉淀或菌膜。

新生隐球菌尿素酶实验为阳性，可作为与假丝酵母区别的依据。

新生隐球菌荚膜由多糖构成，根据其抗原性可分为A、B、C、D 4个血清型。临床分离菌株多属于A与D型。

（二）致病性

新生隐球菌的荚膜多糖是重要的致病物质，有抑制吞噬、诱使动物免疫无反应性、降低机体抵抗力的作用。

新生隐球菌可在土壤，鸟粪、尤其是鸽粪中大量存在，也可存在于人体的体表、口腔及粪便中，可侵犯人和动物引起隐球菌病（cryptococcosis）。多数引起外源性感染，也可引起内源性感染。对人类而言，它是机会致病菌。人由呼吸道吸入后引起感染，最初感染灶多为肺部。肺部感染一般预后良好。但从肺部可以播散至全身其他部位。播散病灶可发生在各个组织和脏器，皮肤、黏膜、淋巴结、骨、内脏等均可受累，最易侵犯的是中枢神经系统，引起慢性脑膜炎。脑及脑膜的隐球菌病预后不良，如不治疗，常导致患者死亡。

（三）微生物学检查法

1. 直接镜检　痰、脓液、离心沉淀后的脑脊液沉渣标本加墨汁作负染色镜检。见到圆形或卵圆形的有折光性的菌体，外周有一圈透明的肥厚荚膜即可确诊。

2. 分离培养　将标本接种于沙保弱琼脂培养基，室温或37℃培养2～5天后形成乳白色、不规则酵母型菌落，表面有蜡样光泽。继续培养则菌落增厚，颜色由乳白、奶油色转变为橘黄色。镜检可见圆形或卵圆形菌体，无假菌丝。

3. 其他检查法　检查尿素酶可鉴定此菌，或在含有二酚底物的培养基上培养，由于新生隐球菌

具有酚氧化酶，可在细胞壁中产生黑素，使菌落成褐色。还可用ELISA、胶乳凝集试验检查患者血清和脑脊液中的新生隐球菌荚膜抗原。隐球菌性脑膜炎的患者阳性率可达90%，在治疗收效后抗原滴度下降。艾滋病患者的高抗原滴度可持续很长时间。

（四）防治原则

鸟粪是动物和人的主要传染源。减少鸽子数量，或用碱处理鸽粪，可控制此病的发生。治疗肺部或皮肤病变，用5-氟胞嘧啶、酮康唑、伊曲康唑有效。中枢神经系统隐球菌病可选用两性霉素B、庐山霉素静脉滴注或伊曲康唑口服，必要时加用鞘内注射。

三、曲霉属

曲霉（*Aspergillus*）广泛分布与自然界，种类繁多，总数可达800余种，分类鉴定比较复杂。少数属于机会致病菌。主要致病菌有烟曲霉（*A. fumigatus*）、黄曲霉（*A. flavus*）、黑曲霉（*A. niger*）、土曲霉（*A. terreus*）、构巢曲霉（*A. nidulans*）5种（表34-5），以烟曲霉最为常见。

（一）生物学性状

曲霉的菌丝为分枝状多细胞性有隔菌丝。接触培养基的菌丝部分可分化出厚壁而膨大的足细胞，并向上生长出直立的分生孢子梗。孢子梗顶端膨大形成半球形或椭圆形的顶囊。在顶囊上以辐射方式长出一二层杆状小梗，小梗顶端再形成一串分生孢子（图34-12）。分生孢子有黄、蓝、棕黑等不同颜色，呈球形或柱状，并形成一个菊花样的头状结构，称为分生孢子头。

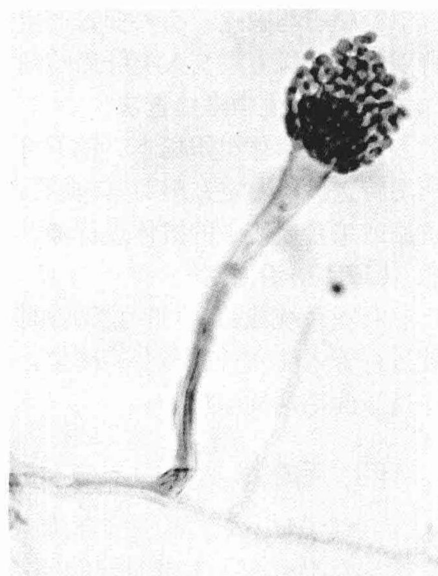


图34-12　曲霉分生孢子头（×400）

在沙保弱培养基上生长良好，在室温或37～45℃均能生长。菌落开始为白色、柔软有光泽，逐渐形成绒毛状或絮状丝状菌落，由于产生分生孢子而形成不同的颜色，是曲霉菌分类的主要特征之一。烟曲霉在25℃培养7天后，菌落直径可达3～5cm，由青绿色变成暗青色。曲霉菌中少数菌种有有性繁殖阶段，多数菌种仍只发现了无性繁殖阶段。

表34-5　5种致病性曲霉比较

曲霉种	菌　落	顶　囊	小　梗	孢　子
烟曲霉	绿/深绿色	烧瓶状	单层，顶囊上半部	球形，有小棘，绿色，成链排列
黄曲霉	黄色	球形或近球形	双层，第一层长，布满顶囊表面，放射状	球形或梨形，有小棘，成链排列
黑曲霉	黑色	球形或近球形	双层，第一层长，布满顶囊表面、放射状	球形，黑褐色，有小棘，成链排列
土曲霉	淡褐色或褐色	半球形	双层，第一层短，顶囊的2/3，放射状	球形，小，表面平滑，成链排列
构巢曲霉	绿色或暗绿色	半球形	双层，第一层略长，顶囊的上半，放射状	球形，绿色，成链排列

（二）致病性

曲霉能侵犯机体许多部位，统称曲霉病（aspergillosis），所致疾病有直接感染、超敏反应及曲霉毒素中毒等类型。

1. 肺曲霉病

（1）真菌球型肺曲霉病（aspergilloma or fungus ball）：又称局限性肺曲霉病，是在器官早已有空腔存在（如结核空洞，副鼻窦，扩张的支气管）的基础上发生。曲霉不侵犯组织，不播散。这种病例应着重治疗原有疾病。

（2）肺炎型曲霉病：曲霉在肺内播散，引起坏死性肺炎或咯血，并可继发播散到其他器官。本病常见于免疫缺陷或免疫力低下的患者。

（3）过敏性支气管肺曲霉病：是一种超敏反应疾病。

2. 全身性曲霉病　原发病灶主要在肺，少见于消化道，多数是由败血症引起的全身性感染。本病多发生在某些重症疾病的晚期，生前很难得到正确诊断。

3. 中毒与致癌　有些曲霉产生的毒素，可引起人或动物急、慢性中毒，损伤肝、肾、神经等组织。特别是黄曲霉毒素与人类肝癌的发生有密切关系。

（三）微生物学检查法

取痰或活体组织标本，镜下可见有隔分枝扭曲的菌丝，分离培养可根据菌落特点及分生孢子的形态特点进行鉴定，但对其病原性确定时应特别慎重。此外，也可用血清学实验检测曲霉菌细胞壁抗原或患者血清中的抗体进行辅助诊断。

（四）防治原则

呼吸系统曲霉病可使用两性霉素B，采取雾化吸入法治疗。真菌球型肺曲霉病，可用5-氟胞嘧啶进行管内注入，适当变换体位，使药物注入空洞内，可收到良好的治疗效果。据报道，伊曲康唑亦适于曲霉病的治疗。

四、毛霉属

毛霉（*Mucor*）属于接合菌亚门，广泛存在于自然环境中，常引起食物霉变。毛霉引起的感染称毛霉病（mucormycosis），通常发生重症疾病的晚期，机体抵抗力极度衰弱时合并本菌感染。

在沙保弱培养基上生长迅速，形成丝状菌落，开始为白色，逐渐转变为灰黑色或黑色。镜下可见无隔菌丝，且分枝成直角。从菌丝上生长出长短不等的孢子囊梗，孢子囊梗上生长着球形孢子囊，孢子囊内充满着大量孢子囊孢子，成熟后孢子囊孢子破囊而出（图34-13）。

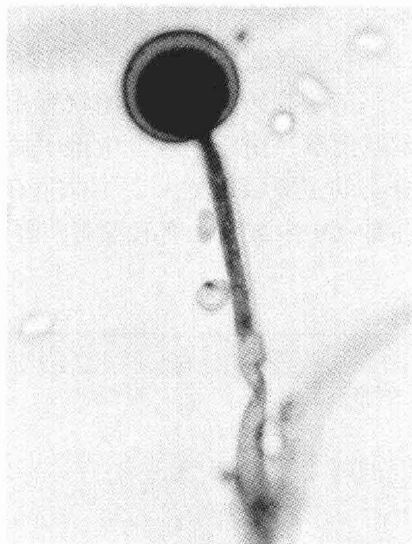


图34-13　毛霉孢子囊（×400）

毛霉感染多首先发生在鼻或耳部，经口腔唾液流入上颌窦和眼眶，引起坏死性炎症和肉芽肿，再经血流侵入脑部，引起脑膜炎。亦可扩散至肺、胃肠道等全身各器官，死亡率较高。由于本病发病急，病情进展快，故生前诊断困难，多通过尸检病理诊断确诊。

微生物学检查取痰、活检或尸检标本，滴加10% KOH直接镜检，见宽大、不规则、分枝状的无隔菌丝。菌丝呈明显嗜苏木精染色，在HE染色中清晰可见。经沙保弱培养基培养后，镜检可见无隔菌丝和孢子囊孢子。

本菌引起的疾病无特效治疗方法，可早期应用两性霉素B、试用外科切除病灶及积极治疗相关疾病。

五、镰刀菌属

近年来，镰刀菌（*Fusarium*）感染的发生逐渐增加。主要致病菌有茄病镰刀菌（*F. solani*）、尖

孢镰刀菌（*F. oxysporum*）、串珠镰刀菌（*F. moniliforme*）。可引起一些浅部真菌病，如真菌性角膜炎、爪真菌病，还可引起深部真菌病。一般是从鼻窦，呼吸道及皮肤入侵，再感染其他器官，如肺、肝、脾、肾等。

培养时，生长迅速，可产生浅紫色或玫瑰红色色素等。大分生孢子两头尖，中央弯曲，为镰刀形，分隔，为多细胞性；小分生孢子卵圆形或棒状，散在或假头状着生，多为单细胞性（图34-14）。

六、肺孢子菌属

肺孢子菌属（*Pneumocystis*）分布于自然界及人和多种哺乳动物肺内，当机体免疫力下降时可引起机会感染，即肺孢子菌肺炎（pneumocystis pneumonia，PCP）。常见的有卡氏肺孢子菌（*P. carinii*）和伊氏肺孢子菌（*P. jiroveci*）。肺孢子菌过去被称肺孢子虫，因其具有原生动物的生活史及虫体形态而归于原虫。近年发现肺孢子菌的超微结构以及基因和编码的蛋白均与真菌相似，故将其归属于真菌。

1. 生物学性状　肺孢子菌为单细胞型，兼具原虫及酵母菌的特点。发育过程经历几个阶段，即滋养体、囊前期、孢子囊（图34-15）。小滋养体为圆形，直径1.2～2.0μm，内含1个核；大滋养体为不规则形，大小为1.2～5.0μm，内含1个核。囊前期为近圆形或卵圆形，大小为3～5μm，囊壁较薄。孢子囊为圆形，直径4～6μm，内含2～8个孢子，各有1个核。自然界中存在的孢子囊被吸入肺内，孢子从孢子囊释放出，形成小滋养体，小滋养体逐渐增大成大滋养体，经二分裂、出芽和接合生殖进行繁殖。大滋养体接合生殖后细胞膜增厚，形成囊壁，进入囊前期。随后囊壁继续增厚形成孢子囊，囊内染色体进行减数分裂，细胞质包围核质形成孢子，成熟的孢子囊内含8个孢子。

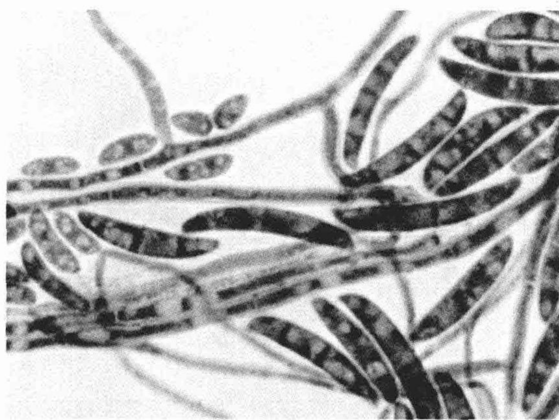


图34-14　镰刀菌的分生孢子（×400）

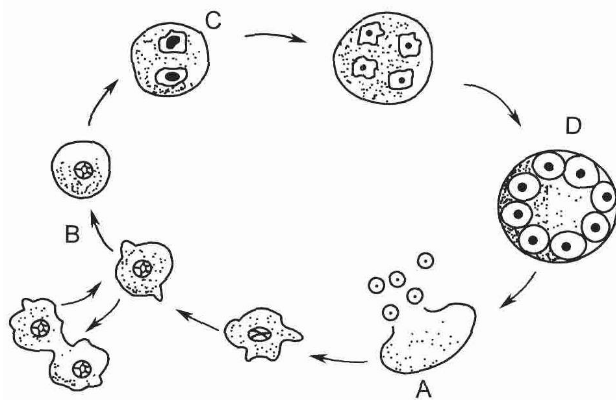


图34-15　肺孢子菌发育周期
A.小滋养体；B.大滋养体；C.囊前期；D.孢子囊

2. 致病性　肺孢子菌经呼吸道吸入肺内，多为隐性感染。当宿主抵抗力低下时，潜伏在肺内以及新侵入的肺孢子菌得以大量繁殖，引起肺孢子菌肺炎。本病多见于营养不良和身体虚弱的儿童、接受免疫抑制剂或抗癌化疗以及先天性免疫缺陷病的患者，近年来成为艾滋病患者常见的并发症，美国约有90%的艾滋病患者合并本病。发病初期为间质性肺炎，病情迅速发展，重症患者因窒息在2～6周内死亡，未经治疗的患者病死率几乎为100%。肺孢子菌也可引起中耳炎、肝炎、结肠炎等。

3. 微生物学检查法　采集痰液或支气管灌洗液，经革兰或美蓝染色镜检，若发现滋养体或孢子囊可确诊。可用ELISA、免疫荧光技术、补体结合试验等检查血清中的特异性抗体，但因多数正常人都曾有过肺孢子菌的隐性感染，故血清学检查仅可作为辅助诊断。近年来PCR及DNA探针技术已试用于肺孢子菌感染诊断，敏感性及特异性均较高，但尚未广泛应用。

4. 防治原则　本菌引起的疾病无有效的预防方法。对长期大量应用免疫抑制剂的患者应警惕诱发肺孢子菌肺炎，对患者应进行隔离。及早的治疗可有效的降低死亡率。本菌对多种抗真菌药物不

敏感。用药首选复方新诺明，戊烷脒气雾吸入效果也较好，还可联合应用克林霉素和伯氨喹啉。

第五节 真菌毒素与肿瘤

真菌除可直接引起人类的多种感染性疾病，如前面所述的皮肤、皮下真菌病及全身真菌病外，其产生的多种真菌毒素（mycotoxins）还可引起人类食物中毒，其中一些毒素还具有致癌、致畸及致突变作用，严重危害人类健康。迄今已发现200多种真菌毒素，对真菌毒素的研究已发展成为食品卫生和肿瘤学研究的一个重要领域。

一、真菌毒素的产生

真菌毒素是一些真菌在生长过程中产生的易引起人和动物病理变化的次级代谢产物，毒性很高。真菌毒素的产生只限于少数菌种或个别菌株，主要为曲霉属、青霉属及镰刀菌属。代表性的真菌毒素有黄曲霉毒素、赭曲霉毒素、展青霉素、单端孢霉烯族毒素、玉米赤霉烯酮、伏马毒素、杂色曲霉毒素、串珠镰刀毒素、桔霉素等。产毒菌株与其所产生的毒素间缺乏严格的专一性，即一种真菌可产生几种毒素，而几种不同的真菌也可以产生同一种毒素，这种不专一性又给真菌毒素的研究及相关预防都带来了一定困难。

真菌毒素的产生受到多种因素影响，除菌种或菌株的差异外，主要影响因素是其存在的天然基质，如黄曲霉和黄曲霉毒素多见于玉米和花生中，镰刀菌及其毒素多见于小麦和玉米中，青霉菌及其毒素多见于大米中等。此外，食品基质中的水分含量、环境条件的温度和湿度以及通气状况等，也都可影响真菌毒素的产生。还有一点值得注意的是产毒真菌的产毒能力容易变异，通常强产毒株经传代培养后，其产毒能力会大幅度下降。

二、真菌毒素的分类

最早真菌毒素是根据其化学结构来分类，可分为二呋喃环类、内酯环类、醌类等。由于毒素的化学结构与毒性之间的联系不密切，所以现在已很少使用。随着研究的深入和临床实际的需要，又将真菌毒素按靶器官分为肝脏毒、肾脏毒、神经毒等。此外，也可根据毒素的产生菌进行分类，如黄曲霉毒素、赭曲霉毒素等。表34-6主要列举了一些可引起实验动物恶性肿瘤的真菌毒素。在这些真菌毒素中，研究最深入的是黄曲霉毒素，故以下主要介绍黄曲霉毒素。

表34-6 致恶性肿瘤的真菌毒素

毒素名称	作用部位	敏感动物	产生菌
黄曲霉毒素B1	肝、肾、肺（癌）	大鼠	黄曲霉、寄生曲霉
黄曲霉毒素G1	肝、肾、肺（癌）	大鼠	黄曲霉、寄生曲霉
黄曲霉毒素M1	肝（癌）	大鼠	黄曲霉、寄生曲霉
杂色曲霉毒素	肝（癌） 皮下组织肉瘤	大鼠	杂色曲霉、构巢曲霉
念珠毒素	皮下组织肉瘤	小鼠	白假丝酵母
灰黄霉素	肝（癌）	小鼠	灰棕青霉、黑青霉
赭曲霉毒素	肾、肝（癌）	小鼠	赭曲霉、纯绿青霉
麦角碱	耳（神经纤维瘤）	大鼠	麦角菌
T-2毒素	胃肠（腺癌）	大鼠	三线镰刀菌
展青霉素	皮下组织肉瘤	大鼠	展青霉
白地霉培养物	前胃	小鼠	白地霉

三、黄曲霉毒素

黄曲霉毒素（aflatoxin，AF）是由黄曲霉（*A. flavus*）和寄生曲霉（*A. parasiticus*）产生的一种代谢产物，具有极强的毒性和致癌性。其化学结构含有二呋喃环和香豆素，目前已发现AF有20多种衍生物。根据在长波紫外线照射下所发出荧光的情况，分为AFB和AFG两大类，发蓝紫色荧光的为AFB1和AFB2，发黄绿色荧光的为AFG1和AFG2。AFB1的毒性和致癌性最强，其结构见图34-16，在天然污染的食品中也最常见，故已作为食品污染检测的指标之一。

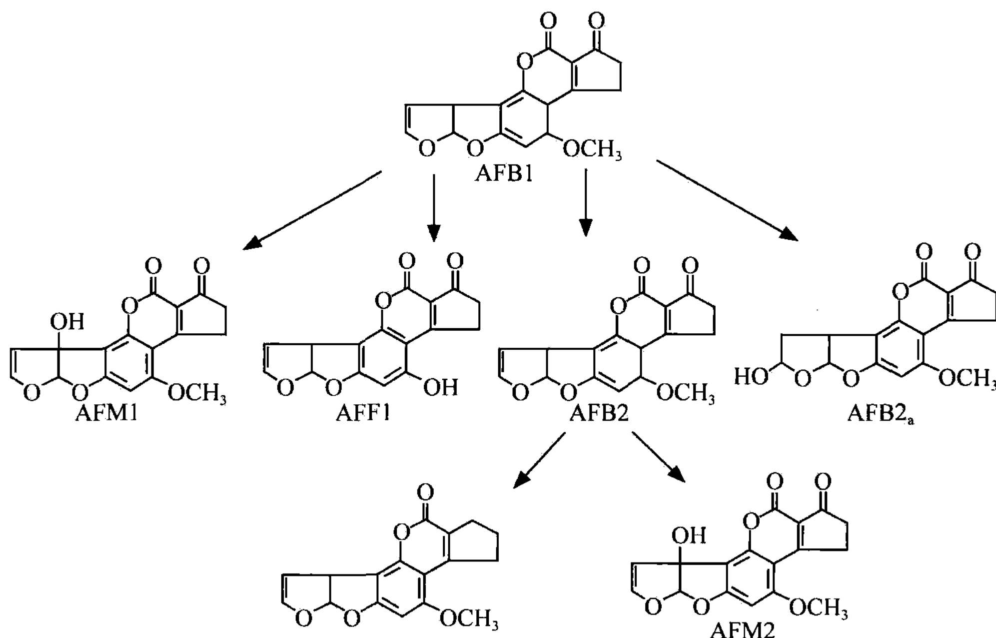


图34-16 AFB1及其衍生物的结构式

1. AF的产生与分布 黄曲霉是一种广泛分布的腐生菌，常被应用于食品发酵工业。在天然情况下，AF主要污染粮油及其制品，如花生及花生油、玉米、大米、高粱等，也可存在于干果类、豆类及豆制品和发酵食品等。不同菌株产毒量的差别很大，从10μg/kg到10^6μg/kg不等。我国学者在流行病学调查研究中发现，广西地区分离出的AFB1产毒株最多，检出率达到58%，而且产毒量也很高，如宜-546菌株在大米粉培养基上，AFB1的产生量可达2×10^6μg/kg。AF的产生除受到菌株本身的因素影响外，外界因素也具有重要作用，其最佳产毒条件为：相对湿度为80%～90%，温度为25～30℃，氧含量为1%以上，培养时间为7天左右。此外，黄曲霉菌的生长基质也很重要，一般来说在天然基质上比在人工合成培养基上的产毒量高。

2. AF的毒性与致癌性 AF是一种剧毒物，其毒性比氰化钾还强。根据不同实验动物和毒素摄入情况，可分急性和慢性毒性。不同动物对AF的敏感性不一样，雏鸭是最敏感的动物，其LD_{50}为0.24mg/kg（AFB1）。急性毒性是由敏感动物一次性摄入较多的毒素所致，主要引起肝实质细胞坏死、肝管增生和肝出血等。雏鸭肝急性中毒病变具有一定特征性，可作为AF生物鉴定的一种指标。慢性毒性则是由持续摄入小量AF所致，实验动物表现为生长障碍，肝功能变化甚至肝硬化等。

AF致癌作用很强，约为二甲基亚硝胺的75倍。AF可在多种动物体内诱发肝癌，包括鱼类、鸟类、哺乳动物和灵长类动物，但以大鼠最为敏感。已有实验报道，用含AFB1的饲料（15μg/kg）喂养大鼠68～80周，全部实验动物均出现肝癌。至于AF与人类癌症，尤其是与人类肝癌的关系，国内外均有不少流行病学调查资料表明AFB1是人类肝癌发生的重要因素。在AFB1致癌机制研究方面，目前认为AFB1主要经肝微粒体酶活化为亲电子的AFB1-2，3-环氧化物，该环氧化物与DNA

的鸟嘌呤酮基结合形成AFB1-DNA复合物，该复合物再经去鸟嘌呤反应而造成细胞DNA损伤，使之进一步发生癌变。此外，毒素也可使细胞DNA发生水解，从而导致开环复合物的不断蓄积，使细胞DNA发生改变，进而引起肿瘤的发生。另外，AF还可抑制RNA合成，抑制率可高达80%～100%。

3. AF的检测　AF严重危害人类健康，必须进行严格的监测。目前检测方法多用薄层层析法和高效液相色谱法，以及一些高敏感性的免疫学方法，如ELISA和RIA等。目前，全球大多数国家都制定了食品中AF的最高限量，世界卫生组织也在1975年就将其定为15μg/kg。我国学者通过大量的实验研究表明，人体的安全剂量为每人每天0.012μg，故我国将食品中AF的最高允许量定为：玉米、花生及其制品为20μg/kg，食用油为10μg/kg，婴儿代乳食品中则不得检出。

展　望

无论在临床实际工作中，还是在日常生活中，真菌感染都是很常见的。虽然我们常根据感染部位将其分为浅部真菌感染和深部真菌感染，但这绝不意味着皮肤癣菌和角层癣菌的感染就只限于浅层。目前已有较多的资料表明，它们也可引起深部感染，甚至出现菌血症或败血症。此外，真菌感染的层次也是相对的，如糠秕孢子菌虽然主要侵犯皮肤浅层而引起花斑癣，但现已发现它也可引起菌血症、毛囊炎、浆膜炎和骨关节炎等。所以，对真菌感染部位和层次一定要具体情况具体分析，而且有必要以动态的观点去思考和分析其感染的发生、发展和结局。

对于致病性真菌感染和机会致病性真菌感染来说，后者的临床意义显得更为重要。机会致病菌感染多发生于机体免疫力低下的情况，如免疫抑制剂使用者、免疫缺陷患者、AIDS、肿瘤及糖尿病患者等，也有部分发生在由于使用抗生素导致菌群失调患者。目前真菌感染的上升，以机会致病菌感染为主，而在真菌感染中有相当一部分属于医院内感染，这应当引起医务工作者的高度重视和关注。

此外，真菌毒素也已成为医学真菌研究的又一个重要领域。真菌毒素不仅种类多，而且分子量较小，对热稳定，很难被去除或破坏，可通过污染谷物和来源于污染真菌的饲料喂养的动物性食物（如牛奶、肉和蛋）进入食物链，引起人或动物的真菌毒素中毒，其毒性作用主要表现为致癌作用、遗传毒性、致畸作用、肝细胞毒性、中毒性肾损伤、生殖紊乱和免疫抑制。如白假丝酵母产生的念珠毒素和糖蛋白就有致癌或辅助致癌作用。而真菌毒素致病有时可以表现为地方性发病，故遇到原因未明的地方性疾病，需要注意真菌毒素中毒的可能性。所以，对真菌毒素的研究已成为临床医学、卫生微生物学、食品卫生学和肿瘤学等多个学科领域共同关注的一个重要课题。

（王　丽）

附录一 主要参考文献

1. 闻玉梅．精编现代医学微生物学．上海：复旦大学出版社，2002
2. 李凡，刘晶星．医学微生物学．第7版．北京：人民卫生出版社，2008
3. 贾文祥．医学微生物学．北京：人民卫生出版社，2005
4. 谷鸿喜，陈锦英．医学微生物学．第6版．北京：北京大学医学出版社，2009
5. 盛祖嘉．微生物遗传学．第3版．北京：科学出版社，2007
6. 许朝晖，喻子牛，译．微生物基因组．北京：科学出版社，2006
7. 李秀丽，李祥翠．放线菌病的研究进展．中国真菌学杂志，2008：3（3）
8. Brooks GF，Brutel JS，Morse SA. Jawetz，Melnick & Adelberg's Medical Microbiology. 24nd ed. New York：Lange Medical Books/McGraw-Hill，2007
9. David M. Knipe，Peter M. Howley（eds）. Fields Virology. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia，2006
10. Murray PA，Rosenthal KS，Kobayashi GS et al. Medical Microbiology. 6th ed. Missouri，USA：Mosby，2009
11. George M. Garrity，Julia A. Bell，Timoth G. Lilburn. Taxonomic Outline of the Prokaryotes，Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd Edition. Release 5.0. Springer New York，2004（5）
12. Pierre-Edouard Fournier and Didier Raoult：Current Knowledge on Phylogeny and Taxonomy of Richkettsia spp. Ann. N.Y.Acad.Sci.，2009. 1166
13. Kenneth J.Ryan，C. George Ray. *SHERRIS* Medical Microbiology. 4th ed. USA：McGraw-Hill Companies，2004
14. 病原微生物实验室生物安全管理条例．（中华人民共和国国务院令（第424号））．2004年11月5日起施行
15. Peter Baskett . Medicine for disasters. Butterworth & Co.（Publishers）Ltd，1988.
16. 郑静晨．灾害救援医学．北京：科学出版社，2008
17. WHO. 实验室生物安全手册．第2版．北京：人民卫生出版社，2003
18. Collier L，Balows A，Sussman M. Topley & Wilson's microbiology and microbial infections.11th ed. London：Arnold，2009（1～6）
19. Prusiner SB. Prion Biology and Diseases. 2nd ed . Cold Spring Harbor Laboratory Press，2004
20. Dagnra AY，Tristan A，Gillet Y，et al. New emerging staphylococcus aureus strains. Rev Prat. 2004，54（10）
21. Greenwood D，Slack R，Peutherer J. Medical Microbiology. 17th ed.Edinburgh：Churchill Livingstone，2008
22. Richard VG，Hazel MD，Zuckerman M，et al. Mims Medical Microbiology. 4th ed. Mosby Elsevier，2009
23. Donlan RM. Biofilm：microbial life on surfaces. Emerging Infectious Diseases，2002，8（9）
24. Wilson M. Bacterial biofilms and human disease. Science Progress，2001，84（3）
25. Cristina J，Costa-Mattioli M. Genetic variability and molecular evolution of Hepatitis A virus. Virus Res，2007，127（2）
26. Martin A，Lemon SM. Hepatitis A Virus：From Discovery to Vaccines. Hepatology，2006，43
27. Michael Houghton. Discovery of the hepatitis C virus. Liver International，2009，29（s1）
28. Tang H，Grisé H. Cellular and molecular biology of HCV infection and hepatitis. Clin Sci（Lond），2009，117（2）
29. Chandra V，Taneja S，Kalia M，et al. Molecular biology and pathogenesis of hepatitis E virus. J Biosci，2008，33（4）
30. Dekker CL，Arvin AM. One step closer to a CMV vaccine. N Engl. J. Med，2009，360（12）
31. Chamberlain MC，Chowdhary S. Post-transplant acute limbic encephalitis：clinical features and relationship to HHV-6. Neurology，2008，70（6）
32. Wainberg MA，Jeang KT. 25 years of HIV-1 research - progress and perspectives. BMC Med，2008，6（31）
33. Gallo RC. A reflection on HIV/AIDS research after 25 years. Retrovirology，2006，3：72
34. Lu S. Human versus HIV：round 2 defeat in AIDS vaccine development. Expert Rev Vaccines，2008，7（2）
35. Pascale Cossart，Patrice Boquet，Staffan Normark，et al. Cellular Microbiology. Washington DC：ASM Press，2008

附录二　汉英名词对照索引

D

H

J

L

M

N

O

P

Z

附录三 医学微生物学相关的网址

Appendix III Microbiology Webs

一、WHO：http：//www.who.int
二、中国微生物学会：http：//csm.im.ac.cn/index.php
三、中华医学会：http：//www.cma.org.cn/
四、国际传染病学会：http：//www.isid.org
五、美国微生物学会系列杂志：http：//www.journals.asm.org
六、国际病毒分类委员会：http：//www.ictvonline.org
七、美国国家医学图书馆：http：//www.nlm.nih.gov
八、美国疾病控制中心：http：//www.cdc.gov
九、中国医药文献数据库：http：//www2.cpi.ac.cn/demo/search_wz.html
十、中国中医药信息网：http：//www.cintcm.ac.cn/
十一、中国生物医学文献数据库：http：//www.imicams.ac.cn/cbm/index.asp
十二、国内部分医学院校网址：

1. 上海复旦大学医学院：http：//www.shmu.edu.cn/
2. 上海交通大学医学院：http：//www.shsmu.edu.cn/
3. 浙江大学医学院：http：//www.zmu.zju.edu.cn/
4. 哈尔滨医科大学：http：//www.hrbmu.edu.cn/
5. 中国医科大学：http：//www.cmu.edu.cn/
6. 中山大学医学院：http：//www.gzsums.edu.cn/
7. 华中科技大学同济医学院：http：//ultr.tjmu.edu.cn/
8. 四川大学华西医学中心：http：//www.wcums.edu.cn/
9. 天津医科大学：http：//www.tijmu.edu.cn/
10. 北京大学医学部：http：//www.bjmu.edu.cn
11. 中国协和医科大学：http：//www.pumc.edu.cn/
12. 吉林大学医学部：http：//yd.jl.cninfo.net/
13. 中国医学科学院：http：//www.cams.ac.cn/cams/index.asp
14. 军事医学科学院：www.bmi.ac.cn/
15. 西安交通大学医学院：http：//www，xjtu.edu.cn/
16. 上海第二军医大学：http：//www.smmu.edu.cn
17. 第三军医大学：http：//www.timmu.edu.cn/
18. 第四军医大学：http：//www.fmmu.edu.cn/
19. 首都医科大学：http：//www.ccmu.edu.cn/
20. 重庆医科大学：http：//www.cqums.edu.cn/
21. 南京医科大学：http：//www.njmu.edu.cn/
22. 中南大学湘雅医学院：http：//www.xysm.net/

23. 北京中医药大学：http：//www.bjucmp.edu.cn/
24. 福建中医药大学：http：//www.fjucm.edu.cn/
25. 南京中医药大学：http：//www.njutcm.edu.cn/cindex.html
26. 中国药科大学：http：//www.bjcmp.edu.cn/
27. 武汉大学医学院：http：//www.whu.edu/～cai/hmu
28. 广东医科大学：http：//www.gdmc.edu.cn/
29. 汕头大学医学院：http：//www.med.stu.edu.cn/
30. 海南医科大学：http：//www.hainmc.edu.cn/
31. 福建医科大学：http：//netcity.fz.fj.cn/medicine/ykdx/yk.htm
32. 贵阳医学院：http：// www.gmc.edu.cn/
33. 大连医科大学：http：//www.dlmedu. edu.cn/
34. 苏州大学医学院：http：//www.suda. edu.cn/
35. 河南医科大学：http：//henmu.zzu.edu.cn/
36. 河北医科大学：http：//www.hebmu.edu.cn/
37. 安徽医科大学：http：//www.ahmu.edu.cn/
38. 新疆医科大学：http：//www.xjmu.edu.cn/
39. 广西医科大学：http：//www.gxmu.edu.cn/
40. 昆明医学院：http：//www.kmmc.edu.cn/
41. 广州医学院：http：//www.gzhmc.edu.cn/
42. 暨南大学医学院：http：// www.jnu.edu.cn/
43. 温州医学院：http：// www.wzmc.edu.cn/
44. 泸州医学院：http：// www.lzmc.edu.cn/
45. 川北医学院：http：//www.nsmc.edu.cn/
46. 东南大学医学院：http：//www.seu.edu.cn/
47. 青岛大学医学院：http：//www.qdu.edu.cn/
48. 成都中医药大学：http：//www.cdutcm.edu.cn/
49. 沈阳药科大学：http：//www.syphu.edu.cn/
50. 遵义医学院：http：//www. mc.gz.cn/

十三、中文医学杂志网址：

1. JAMA：http：//jama.ama-assn.org/
2. 中华微生物学和免疫学杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical
3. 中华实验和临床病毒学杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical
4. 中华医学杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn//periodical
5. 病毒学报：http：//www.chinajournal.net/BDXB.html
6. 中华流行病学杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/zhlxbx/index.htm
7. 军事医学科学院院刊：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/jsyxkxyyk/index.htm
8. 中华传染病杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/zhcrbzz/index.htm
9. 中国新药杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgxyzz/index.htm
10. 中国医学科学院学报：http：//www.chinainfo.gov.cn//periodical/zgyxkxyxb
11. 英国医学杂志中文版：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/zh-bmj-c/index.htm
12. 中国病毒学：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgbdx/index.htm
13. 中国皮肤性病学杂志：http：//www. 202.117.168.22/pifu/index.html
14. 免疫学杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/myxzz/index.htm

15. 中国抗生素杂志：http：//www.antibiotics-cn.com/anti_front/front_maga/
16. 中国免疫学杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgmyxzz/index.htm
17. 中国药学杂志：http：//www.chinainfo.gov.cn/periodical/zgyxzz/index.htm

十四、英文医学杂志网址：

1. Science：http：//www.sciencemag.org/
2. Nature：http：//www.nature.com
   http：//www.natureasia.com（自然杂志的中文网址）
3. Proceedings of the National Academy of Sciences：http：//www.pnas.org/
4. Centers for Disease Control and Prevention：http：//www.cdc.gov/
5. Emerging Infectious Diseases：http：//www.cdc.gov/eid
6. The Microbiology Network：http：//microbiol.org/
7. Journal of General Virology：http：//vir.sgmjournals.org/
8. BioScience Research Tool：http：//biochemie.net/links/index.html.
9. Parasitology，Microbiology，Immunology http：//www.isumc.edu/campus/micr
10. The journal of Immunology：http：//www.jimmunol.org
11. Harvard medical School：http：//www.medicine.iu.edu/home.html
12. Medical College of Wisconsin：http：//www.mcw.edu/
13. Stanford University School of Medicine：http：//www.mce.stanford.cdu/school/
14. Boston University School of Medicine：http：//www.bumc.bu.edu/
15. Immunology Today：http//www.elsevier.nl/locate/ito
16. Center for Epidemiologic Research：http：//www.orau.gov/cer/
17. Journal of Infectious Diseases：http：//www.journals.uchicago.edu/JID/home.html
18. National Center for Biotechnology Information：http：//www.ncbi.nlm.nib.gov/
19.Cornell University medical college：http：//www.med.cornell.edu/
20.American Cancer Society：http：//www.cancer.org/
21. Nature Biotechnology：http：//biotech.nature.com/
22. University of Alabama School of Dentistry：http：//www.dental uab edu/
23. New York University College of Dentistry：http：//www.nyu.edu/Dental/
24. The American Dental Association：http：//www.dental-resource

十五、微生物基因组研究网址：

1. http：//www.sanger.ac.uk/projects. Sanger 中心
2. http：//www.genome.ou.edu Oklahoma 大学
3. http：//www.pasteur.fr 巴斯德研究所
4. http：//www.mcs.anl.gov/home/gaasterl/magpic.html MAGPIE计划
5. http：//www.tigr.org Genomic研究所
6. http：//www.seqnet.dl.ac.uk//home.html
7. http：//www.ncbi.nlm.gov 生物技术信息国家中心
8. http：//www.pdb.bnl.gov 蛋白数据

十六、微生物感染与抗生素耐药网址：

1. http：//www.fda.gov/fdac/features/795 antibio.html.
2. http：//resistanceweb.mfhs.edu/cit/Index.asp

十七、防治结核信息网址：

1. http：//www.who.int/gtb/

2. http：//www.niaid.nih.gov/dmid/tb/plan.htm

3. http：//www.cdc.gov/nchstp/tb/faps/qa.htm

十八、结核杆菌耐药性、应用基因芯片技术检测网址：

1. http：//www.harc.edu

2. http：//www.ncbi.nlm.nih.gov

十九、DNA疫苗网址：

1. http：//www.fda.gov/cber/.

2. http：//www.dnavaccine.com.

［Ｇｅｎｅｒａｌ Ｉｎｆｏｒｍａ
ｔｉｏｎ］
书名＝医学微生物学
作者＝贾文祥主编
页数＝４７８
ＳＳ号＝１２６２２０２２
出版日期＝２０１０．０８